

Контрастирование структурных элементов кожи наночастицами в оптической когерентной томографии: количественная оценка

М.Ю.Кириллин, П.Д.Агрба, М.А.Сироткина, М.В.Ширманова, Е.В.Загайнова, В.А.Каменский

Исследованы изменения контраста структурных элементов на изображениях кожи, получаемых методом оптической когерентной томографии (ОКТ), при применении золотых наночастиц и наночастиц диоксида титана. Результаты экспериментального исследования сравниваются с результатами моделирования методом Монте-Карло (МК). Показано, что в эксперименте in vivo на коже свиньи контраст границы эпидермиса и дермы повышается с 0.78 ± 0.03 до 0.92 ± 0.04 при поверхностном нанесении золотых наночастиц и с 0.78 ± 0.03 до 0.86 ± 0.04 при нанесении наночастиц диоксида титана. Для последнего случая характерно также увеличение контраста желез с 0.68 ± 0.12 до 0.84 ± 0.07 . Максимальный контраст достигается через 120–150 мин при использовании золотых наночастиц и через 160–200 мин при использовании диоксида титана. Результаты МК-моделирования показали рост контраста включений до 0.85 и 0.65 соответственно при условии его изначального отсутствия.

Ключевые слова: оптическая когерентная томография, наночастицы, контраст изображения, моделирование методом Монте-Карло.

1. Введение

Интенсивное развитие оптических методов исследования внутренней структуры различных объектов сопровождается их активным применением для решения задач биомедицинской диагностики [1–4]. Традиционные методы визуализации внутренней структуры биологических тканей, такие как рентгеновская компьютерная томография [5] и магнитно-резонансная томография [6], позволяют получать изображения с пространственным разрешением не выше 100–1000 мкм [5, 6], что зачастую недостаточно для обнаружения патологических изменений. Кроме того, применение рентгеновской томографии ограничено негативным воздействием ионизирующего излучения на живые объекты. В последнее время предпринимаются успешные попытки довести пространственное разрешение оптических методов до клеточного уровня (~10 мкм). Это достигается, в частности, при помощи конфокальной оптической микроскопии [7] и оптической когерентной томографии (ОКТ) [8, 9].

Метод ОКТ, основанный на принципе отражательной низкокогерентной интерферометрии, характеризуется высокой скоростью получения изображений, простотой использования, портативностью и надежностью устройств. Его применимость для визуализации покровных тканей – кожи и слизистых оболочек – широко описана в литературе [10]. К сожалению существенным недостатком ме-

тода ОКТ при исследовании кожи является малая (менее 1.5 мм) глубина визуализации и низкий контраст получаемых изображений [10], что связано с сильным рассеянием зондирующего излучения в исследуемом объекте.

Рассеяние излучения в биотканях обусловлено пространственным распределением показателя преломления и зависит от особенностей строения биоткани. В свою очередь, данное распределение определяет макроскопические оптические параметры: коэффициент рассеяния μ_s , коэффициент поглощения μ_a и фактор анизотропии g . Изменяя распределение показателя преломления внутри биоткани, можно управлять ее оптическими характеристиками, например с помощью компрессии [10, 11], а также применения просветляющих [1] или контрастирующих агентов [12–15]. В качестве контрастирующих агентов для ОКТ в ряде исследований использовались наночастицы [12–16]. Показано, что после нанесения на поверхность кожи они проникают в ткань и, обладая более изотропной фазовой функцией по сравнению с рассеивающими элементами кожи, повышают обратное рассеяние зондирующего излучения [12–15]. Увеличение обратного рассеяния от структурных элементов, концентрация наночастиц в которых выше, чем в окружающих тканях, приводит к повышению контраста на ОКТ-изображениях.

В работах [12, 15] была показана возможность наблюдения с помощью ОКТ накопления золотых наночастиц в коже. Однако количественные оценки увеличения контраста на ОКТ-изображениях при использовании наноразмерных агентов в случае применения in vivo в этих статьях отсутствуют.

Цель настоящей работы – количественная оценка эффекта контрастирования структурных элементов кожи свиньи при использовании золотых наночастиц и наночастиц диоксида титана на ОКТ-изображениях, полученная из результатов экспериментального исследования, а также моделирования методом Монте-Карло.

М.Ю.Кириллин, П.Д.Агрба, В.А.Каменский. Институт прикладной физики РАН, Россия, 603950 Н.Новгород, ул. Ульянова, 46; e-mail: mkirillin@yandex.ru, agrbapd@gmail.com

М.А.Сироткина, М.В.Ширманова, Е.В.Загайнова. Нижегородская государственная медицинская академия, Россия, 603005 Н.Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; e-mail: sirotkina_m@mail.ru, shirmanovam@mail.ru

Поступила в редакцию 10 февраля 2010 г., после доработки – 11 мая 2010 г.

2. Материалы и методы

2.1. Объект исследования

В качестве объекта исследования была выбрана кожа свиньи. Основанием для выбора послужило то, что по своему строению и толщине она близка к коже человека и характеризуется большим количеством структурных неоднородностей.

На рис.1 представлено схематическое изображение строения кожи свиньи. Она имеет многослойную структуру и включает в себя эпидермис, состоящий из наружного рогового слоя и клеточных слоев, и дерму. Дерму условно можно подразделить на верхний слой с волосными фолликулами и протоками желез и нижний слой, содержащий сальные железы.

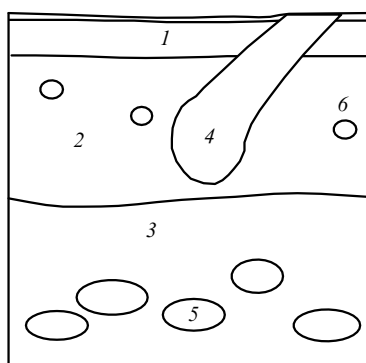


Рис.1. Схематическое изображение строения кожи свиньи: 1 – эпидермис; 2 – верхние слои дермы; 3 – нижний слой дермы; 4 – волосистой фолликулы; 5 – железы; 6 – протоки.

2.2. Наночастицы

В работе использованы два типа частиц – золотые наноболочки (изготовлены в Институте биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН) и диоксид титана в виде водной суспензии. Радиус ядра из диоксида кремния и толщина золотой оболочки составляли 75 и 25 нм соответственно [13]. Наночастицы, представляющие собой рутильную форму диоксида титана высокой чистоты (99.999 %), изготовлены группой «Промхим», диаметр частиц диоксида титана был равен 108 ± 24 нм. При растворении в воде наночастицы диоксида титана демонстрируют высокую степень агрегации со средним размером агрегата 400 нм. Для измельчения агрегатов и предотвращения агрегации наночастицы перед применением подвергались ультразвуковому воздействию в течение 30 мин.

2.3. Методика проведения эксперимента

Эксперимент проведен с использованием оптического когерентного томографа, разработанного в Институте прикладной физики РАН [17]. Центральная длина волны зондирующего излучения была равна 910 нм, ширина спектра – 50 нм, продольное разрешение в воздухе составляло 15 мкм, поперечное разрешение – 20 мкм. Диаметр зонда был равен 2.7 мм, время получения одного ОКТ-изображения составляло 5 с.

При получении ОКТ-изображений сила прижатия зонда к поверхности кожи была одинаковой, что сводило к минимуму влияние различия степени компрессии ткани на изменения, наблюдаемые на ОКТ-изображениях

после нанесения наночастиц. Перед проведением *in vivo* исследования с поверхности кожи удаляли волосяную покров. Для получения опорного изображения и отделения эффектов, вызванных наночастицами, от эффектов, обусловленных смачиванием, на соседний участок кожи наносилась дистиллированная вода. Первое ОКТ-изображение получалось через 15 мин после нанесения агентов, а затем каждые 30 мин в течение 5 ч. В каждой временной точке с участка площадью 1 см² было получено 15–20 изображений.

По окончании исследования проводилась биопсия кожи (под местным наркозом). Структурные элементы кожи на ОКТ-изображениях идентифицировались путем их сопоставления с соответствующими гистологическими изображениями [12, 13]. Наличие наночастиц внутри кожи было подтверждено с помощью электронной микроскопии [13].

2.4. Метод Монте-Карло

Моделирование распространения излучения в рассеивающей среде методом Монте-Карло (МК) основано на многократном расчете случайных траекторий фотонов в среде и на последующем статистическом анализе полученных данных. Входными параметрами при применении этого метода являются оптические свойства и геометрия среды, которые определяют длины и формы отдельных траекторий фотонов.

Моделирование ОКТ-сигналов и изображений осуществлялось с использованием разработанного и апробированного ранее кода [18–20]. При этом спекл-структура получаемого изображения не учитывалась, что позволило получить модельные изображения с большим отношением сигнал/шум. При расчетах использовалась фазовая функция Хенши–Гринштейна, широко применяемая в МК-моделировании распространения света в биотканях, включая кожу [21]:

$$f_{HG}(\theta) = \frac{1}{4\pi} \frac{1 - g^2}{(1 + g^2 - 2g \cos \theta)^{3/2}}, \quad (3)$$

где θ – угол рассеяния; g – фактор анизотропии.

Двумерные ОКТ-изображения получают путем последовательного моделирования одномерных ОКТ-сигналов (А-сканов) с определенным шагом между точками зондирования. За шаг обычно принимается диаметр зондирующего пучка на уровне половины амплитуды поля, что соответствует принципу построения ОКТ-изображения в эксперименте.

Использованные при моделировании параметры приблизительно соответствовали параметрам ОКТ-установки. Длина когерентности l_{coh} считалась равной 15 мкм. При моделировании двумерных ОКТ-изображений рассчитывалось 50 последовательных А-сканов с шагом между точками сканирования 20 мкм. Для расчета каждого А-скана использовалось 5 млн. фотонов. Время расчета одного ОКТ изображения на персональном компьютере (процессор Intel Pentium 4 с тактовой частотой 2.8 ГГц) составляло ~ 10 ч.

На рис.2 представлено схематическое изображение использованной при моделировании четырехслойной модели кожи, основанной на экспериментальных ОКТ-изображениях. Значения оптических параметров были получены усреднением соответствующих параметров для кожи человека (табл.1) [21, 22].

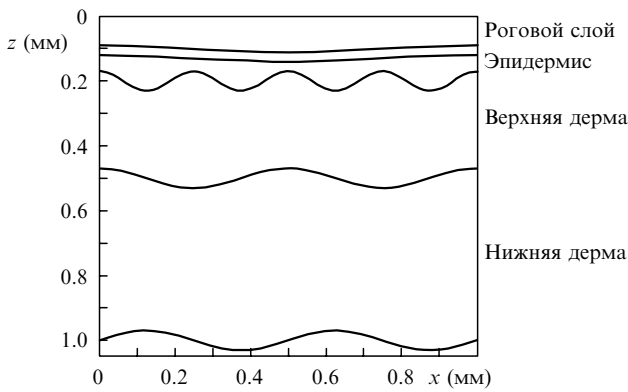


Рис.2. Четырехслойная модель кожи, использованная при МК-моделировании.

Табл.1. Оптические свойства слоев кожи ($\lambda = 910$ нм).

Номер слоя	Слой кожи	h (мм)	μ_s (мм ⁻¹)	μ_a (мм ⁻¹)	g	N
1	Роговой	0.03	35	0.02	0.9	1.45
2	Эпидермис	0.07	12	0.1	0.9	1.39
3	Верхняя дерма	0.3	7	0.7	0.85	1.4
4	Нижняя дерма	0.5	12	0.1	0.9	1.4

Примечание: h – толщина слоя кожи; N – показатель преломления.

При изучении эффекта контрастирования границы между эпидермисом и дермой считалось, что наночастицы содержатся в двух верхних слоях – роговом слое и эпидермисе. При изучении эффекта контрастирования структурных особенностей кожи считалось, что в верхнем слое дермы находится сферическая волосая фолликула радиусом 0.10 мм без наночастиц, а наночастицы содержатся в трех верхних слоях кожи.

Моделирование проводилось для двух типов наночастиц – золотых нанооболочек и частиц диоксида титана, параметры которых соответствовали используемым в эксперименте. Значения комплексного показателя преломления диоксида кремния, золота и диоксида титана для длины волны 910 нм были выбраны на основе данных, представленных в [23–25]. Сечения рассеяния для золотых нанооболочек и для частиц диоксида титана составляли 0.070 и 6.90×10^{-5} мкм², сечения поглощения – 0.008 и 1.61×10^{-5} мкм² соответственно. Поскольку точно определить концентрацию наночастиц в коже при проведении эксперимента довольно сложно, при моделировании их объемная концентрация варьировалась от 0.001 % до 0.01 % для нанооболочек и от 0.01 % до 0.5 % для частиц диоксида титана.

2.5. Методика определения контраста на ОКТ изображениях

Для количественной оценки изменения оптических свойств слоев при применении наночастиц использовалось понятие контраста ОКТ-изображений. Контраст вычислялся следующим образом. На томограмме выделялся однородный по поперечной координате участок (рис.3.а), сигнал внутри которого усреднялся по поперечной координате, и для него строилась зависимость интенсивности ОКТ-сигнала от глубины (усредненный А-скан). Затем определялись интенсивности исследуемых слоев на ОКТ-изображении в децибелах (рис.3.б) и находилась их разность, равная отношению этих интенсивностей.

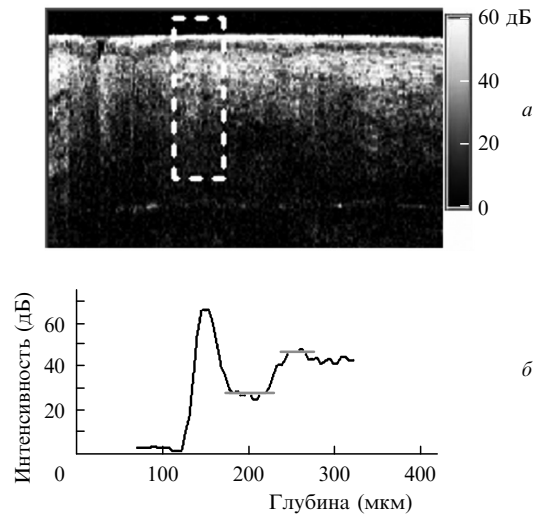


Рис.3. Определение контраста между слоями на ОКТ-изображениях: выбор однородного по поперечной координате участка на ОКТ-изображении (а) и усредненный по поперечной координате ОКТ-сигнал внутри этого участка (А-скан) (б); горизонтальными линиями показаны интенсивности (в децибелах), соответствующие исследуемым слоям, разность которых является контрастом.

При вычислении контраста включений на ОКТ-изображениях оценивалось изменение контраста верхней границы, поскольку диффундирующие наночастицы оседают преимущественно на ней.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Экспериментальное исследование

Результаты наших предыдущих работ показали, что характерным эффектом при использовании наночастиц является увеличение контраста эпидермиса и желез. Время максимального накопления разных наночастиц различно: для золотых нанооболочек оно составляет 150 мин, для наночастиц диоксида титана – 180 мин [20]. На рис.4 представлены типичные ОКТ-изображения кожи свиньи до нанесения наночастиц и в момент их максимального накопления.

ОКТ-изображения кожи через 150 мин после нанесения золотых нанооболочек и 180 мин после нанесения диоксида титана показывают, что их ОКТ-сигнал значительно больше, чем у опорного изображения. Это говорит о повышении обратного рассеяния по всей глубине, вызванном проникновением в кожу наночастиц. Благодаря этому глубина визуализации кожи на ОКТ-изображениях увеличивается, и более отчетливо видны включения с низким уровнем ОКТ-сигнала – железы, расположенные на значительных глубинах (рис.4).

Усредненные по поперечной координате А-сканы, полученные из ОКТ-изображений кожи на рис.4, представлены на рис.5. Штриховой линией изображены А-сканы кожи без наночастиц, сплошной – А-сканы после нанесения диоксида титана и золотых наночастиц.

На рис.6 представлена динамика изменения контраста границы между эпидермисом и верхней дермой и контраста границ включения после нанесения суспензии частиц диоксида титана и золотых нанооболочек.

На ОКТ-изображениях, полученных до нанесения наночастиц, контраст границы эпидермис/дерма составлял 0.78 ± 0.03 . Сразу же после нанесения суспензии наноча-

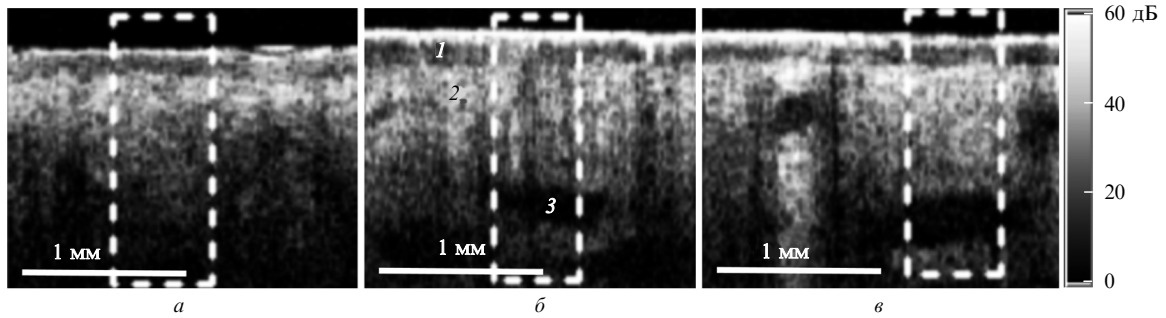


Рис.4. In vivo ОКТ-изображения кожи свиньи без наночастиц (опорное) (а), через 150 мин после нанесения золотых наночастиц (б) и через 180 мин после нанесения диоксида титана (в). Штриховыми линиями выделены области поперечного усреднения, цифрами обозначены эпидермис (1), дерма (2) и включения (3).

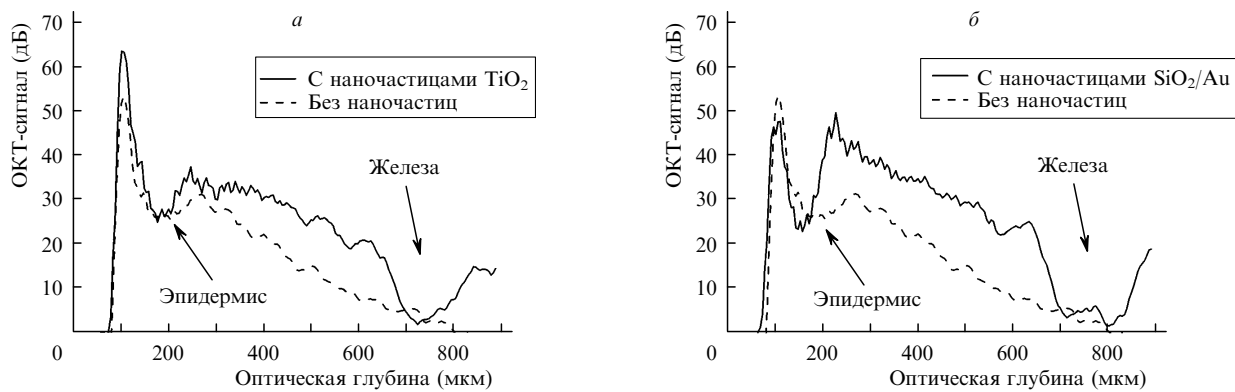


Рис.5. Усредненные А-сканы кожи свиньи через 180 мин после нанесения суспензии диоксида титана (а) и через 150 мин после нанесения суспензии золотых наноболочек (б). Соответствующие участки усреднения выделены штриховой линией на рис.4.

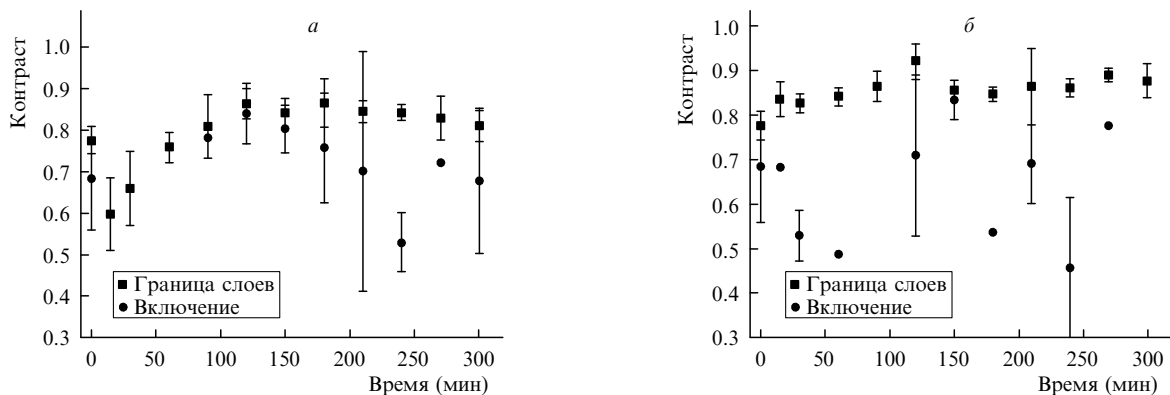


Рис.6. Динамика изменения контраста границы между эпидермисом и дермой и контраста границ желез после нанесения суспензии наночастиц диоксида титана (а) и золотых наноболочек (б) на поверхность кожи.

стиц диоксида титана наблюдается спад контраста до 0.60 ± 0.09 (рис.6,а). Это может быть вызвано проникновением наночастиц в эпидермис и, как следствие, повышением обратного рассеяния от данного слоя. В дальнейшем контраст границы возрастает, и в течение 120–240 мин после нанесения частиц он составляет около 0.86 ± 0.04 . Это связано, вероятно, с прохождением наночастиц из эпидермиса в дерму. Затем контраст плавно уменьшается и через 300 мин после нанесения суспензии достигает 0.81 ± 0.04 .

После нанесения золотых наноболочек контраст границы между эпидермисом и дермой с течением времени немного увеличивается. Он растет с 0.78 ± 0.03 до 0.92 ± 0.04 , достигая максимума через 120–150 мин. Далее его значение колеблется около 0.87 (рис.6,б). Видно, что контраст границы между эпидермисом и дермой в данном случае в первые минуты после нанесения наноо-

болочек остается прежним; возможно, это вызвано более быстрым (менее 15 мин) проникновением частиц золота сквозь эпидермис, чем частиц диоксида титана.

На временной зависимости контраста границы включений с окружающими слоями дермы в присутствии частиц диоксида титана максимум наблюдается через 120 мин после нанесения суспензии и составляет 0.84 ± 0.07 (0.68 ± 0.12 до нанесения). Видно, что времена достижения максимального контраста границы эпидермис/дерма и границы включений совпадают. Это может быть вызвано проникновением наночастиц на глубины залегания включений. Снижение контраста может быть обусловлено проникновением наноболочек внутрь включений или ответной реакцией организма на внедрение инородных тел, каковыми являются наночастицы.

На временной зависимости контраста границы включений с окружающими слоями дермы в присутствии зо-

лотых наночастиц единой динамики не наблюдается. Более того, погрешность измерений контраста не позволяет делать конкретных выводов о влиянии золотых наночастиц на контраст включений. Данные результаты объясняются малым числом включений на ОКТ-изображениях в присутствии золотых наночастиц.

3.2. Моделирование методом Монте-Карло

Для более детальной интерпретации полученных результатов нами было проведено численное моделирование контрастирования границ включений и границы между эпидермисом и дермой методом Монте-Карло. ОКТ-изображения, полученные МК-методом, представлены ниже на рис.8. Интенсивность ОКТ-сигнала также выражена в децибелах.

При моделировании считалось, что до применения контрастирующих агентов границы включений внутри биоткани не различаются методом ОКТ. Поэтому модельное ОКТ-изображение является многослойным, однородным по структуре внутри каждого слоя (рис.7,а). При моделировании биоткани в присутствии наночастиц считалось, что, кроме включения, они расположены равномерно в трех верхних слоях с объемной концентрацией 0.01 % и 0.5 % для золотых наночастиц и частиц диоксида титана соответственно (рис.7,б,в).

Модельные и экспериментальные ОКТ-изображения биоткани без наночастиц (рис.7,а и 4,а соответственно) характеризуются продольной структурой и равномерным спаданием интенсивности сигнала по глубине внутри каждого слоя. На экспериментальном изображении по продольной координате имеются неоднородности, вызванные особенностями строения биоткани. Однако в модели эти особенности не учитывались, т. к. они не вносят качественного изменения в исследуемый эффект. Кроме того, отличия модельного изображения от экспери-

ментального могут быть вызваны различием между усредненными значениями оптических параметров, использованными для моделирования, и оптическими параметрами биоткани, исследуемой в работе. Еще одной особенностью модели является то, что оптические параметры включений равны оптическим параметрам слоя, в котором они находятся. Вследствие этого на модельных ОКТ-изображениях биоткани без наночастиц изображение включений отсутствует, т. е. контраст их границы равен нулю. Однако на экспериментальных ОКТ-изображениях биоткани изображения включений видны. На модельных ОКТ-изображениях биоткани при наличии наночастиц (рис.7,б) появляется изображение включения, т. е. возрастает контраст его границы, что соответствует экспериментальным данным. Различия в этом случае могут быть вызваны тем, что в эксперименте проникновение наночастиц начинается от границы между кожей и воздухом, в результате чего происходит их градиентное распределение по глубине внутри слоя и проникновение внутрь включения. Кроме того, существует скачок концентрации на границе областей с разными диффузионными свойствами, вследствие которого, в частности, увеличивается контраст границы между эпидермисом и дермой. В модельном же эксперименте считалось, что золотые наночастицы равномерно распределены по всему объему биоткани (кроме включения), что приводит к более сильному контрасту границы включения, чем в эксперименте, однако контраст границы между эпидермисом и дермой отсутствует.

На рис.8 представлены усредненные по поперечной координат А-сканы ОКТ-изображений, полученных методом МК-моделирования. Пунктирной линией показаны А-сканы кожи без наночастиц, сплошной – после нанесения наночастиц диоксида титана и золотых наночастиц. Подобно эксперименту *in vivo*, после применения

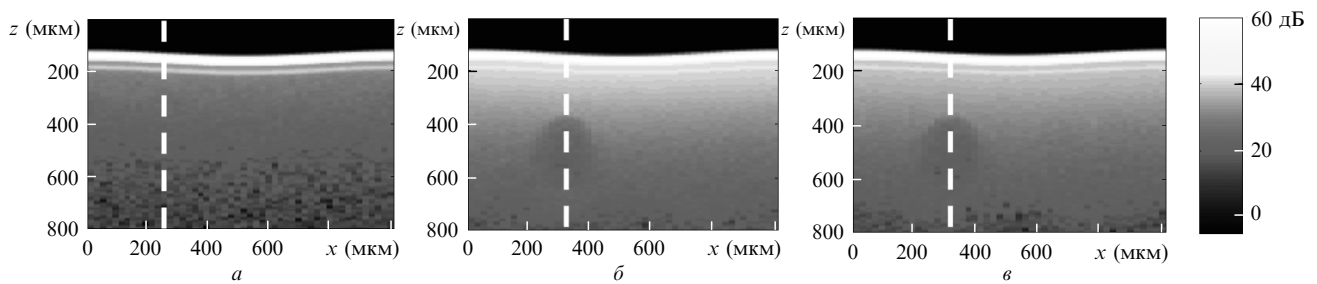


Рис.7. ОКТ-изображения кожи, полученные методом МК-моделирования, без наночастиц (опорное изображение) (а) и при нанесении золотых наночастиц (б) и частиц диоксида титана (в) в трех верхних слоях при концентрации золотых наночастиц и частиц диоксида титана 0.01 % и 0.5 % объема соответственно (предполагается, что волосяная луковица находится в верхней дерме).

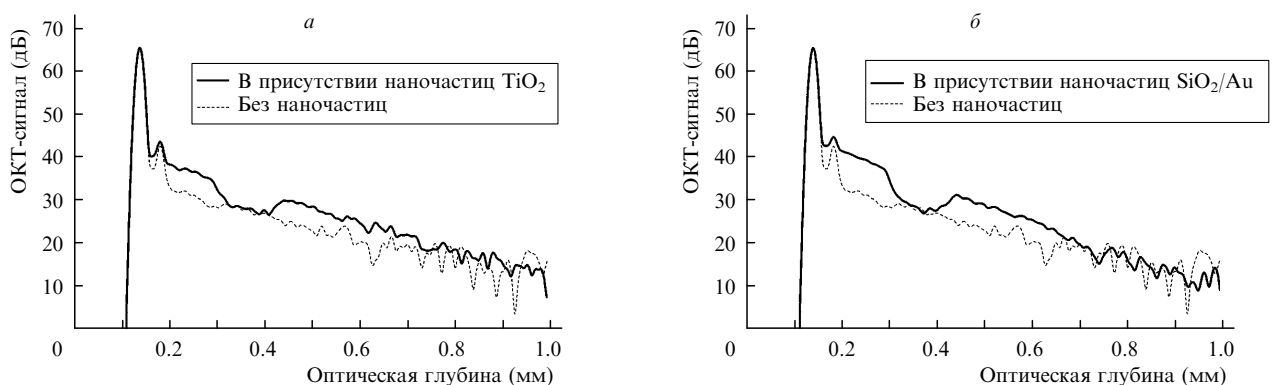


Рис.8. Модельные А-сканы до и после нанесения диоксида титана (а) и золотых наночастиц (б). Положения на ОКТ-изображениях соответствуют штриховой линии на рис.7.

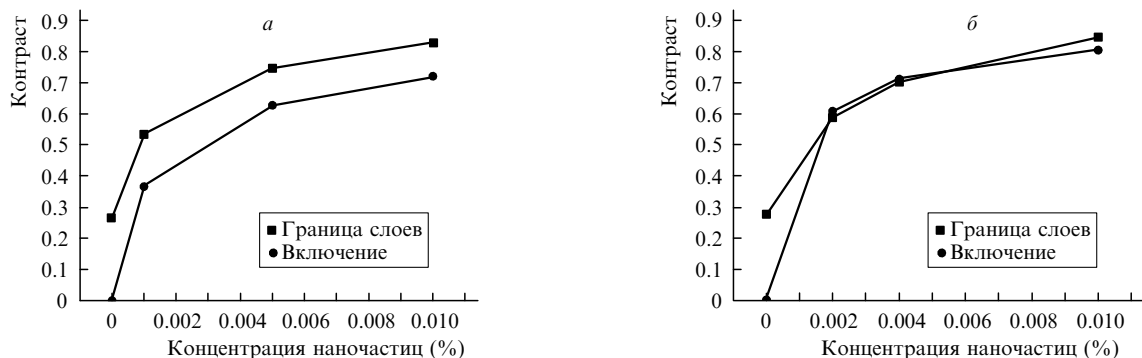


Рис.9. Зависимости контраста границы между эпидермисом и дермой и контраста границ включений от объемной концентрации диоксида титана (а) и золотых наночастиц (б).

наночастиц интенсивность обратного рассеяния по всей глубине возрастает при использовании как золотых наночастиц, так и диоксида титана, и растет контраст включений.

На рис.9 представлены зависимости контраста границ между эпидермисом и дермой и границ включений от объемной концентрации наночастиц внутри кожи, рассчитанные по результатам МК-моделирования. При увеличении объемной концентрации золотых наночастиц от 0 до 0.5% контраст границ возрастает с 0 до 0.6 для включений и с 0.2 до 0.6 для границы между эпидермисом и дермой. При таком же увеличении объемной концентрации частиц диоксида титана контраст границ соответственно растет с 0 до 0.65 и с 0.25 до 0.75.

Численные данные, полученные с помощью МК-моделирования, качественно совпадают с результатами эксперимента *in vivo*, что говорит об адекватности выбранной модели, однако количественные изменения контраста границ внутри биоткани существенно различны. Несоответствие между экспериментальными результатами и данными МК-моделирования может быть вызвано тем, что при моделировании считалось, что до нанесения наночастиц включения методом ОКТ не визуализируются (оптические параметры включений совпадают с параметрами содержащего их слоя). Однако на экспериментальных ОКТ-изображениях включения наблюдаются и до нанесения наночастиц, хотя контраст их границ ниже, чем после нанесения. При моделировании также считалось, что, в отличие от реального эксперимента, наночастицы распределяются по всему объему верхних слоев образца равномерно.

4. Заключение

Как экспериментальные, так и численные исследования показали, что применение наночастиц позволяет повысить контраст структурных элементов кожи на ее ОКТ-изображениях. В эксперименте *in vivo* на коже свиньи контраст границы эпидермиса и дермы повышается с 0.78 ± 0.03 до 0.92 ± 0.04 при поверхностном нанесении золотых наночастиц и с 0.78 ± 0.03 до 0.86 ± 0.04 при нанесении наночастиц диоксида титана. В последнем случае характерным эффектом было контрастирование желез – контраст увеличивался с 0.68 ± 0.12 до 0.84 ± 0.07 . При МК-моделировании контраст включений повышался до 0.85 и 0.65 соответственно при условии его изначального отсутствия.

Была также проанализирована динамика процесса контрастирования, что позволило установить время, че-

рез которое контраст для данного типа кожи и данных наночастиц становится максимальным. Экспериментальные наблюдения показали, что максимальный контрастирующий эффект достигается через 120–150 мин после применения золотых наночастиц и через 160–200 мин после применения наночастиц диоксида титана.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 09-02-97040, 10-02-00744, 09-02-00539, 09-02-97072, 09-02-12215) и грантов президента МК-1127.2010.2 и МД-3018.2009.7.

1. *Optical Clearing of Tissues and Blood*. Ed. by V.V.Tuchin (Bellingham: SPIE Press, 2005).
2. *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics* (Bellingham: SPIE Press, 2002).
3. *Handbook of Coherent Domain Optical Methods: Biomedical Diagnostics, Environmental and Material Science*. Ed. by V.V.Tuchin (Boston: Kluwer Acad. Publ., 2004).
4. *Biomedical Photonics Handbook*. Ed. by T.Vo-Dinh (Bellingham: SPIE Press, 2003).
5. *The Biomedical Engineering Handbook*. Ed. by J.D.Bronzino (Boca Raton: CRC Press, 2000, Vol. 1, chap. 61).
6. *The Biomedical Engineering Handbook*. Ed. by J.D.Bronzino (Boca Raton: CRC Press, 2000, Vol. 1, chap. 63).
7. Collier T., Lacy A., et al. *Acad. Radiology*, **9**, 504 (2002).
8. *Handbook of Optical Coherence Tomography*. Ed. by B.E.Bouma, G.J.Tearney (New York: Marcel Dekker, 2002).
9. Schmitt J.M. *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, **5** (4), 1205 (1999).
10. Гладкова Н.Д., Шахова Н.М., Сергеев А.М. (ред.) *Руководство по оптической когерентной томографии* (М.: Физматлит, 2007).
11. Sarvazyan A.P., Skovoroda A.R. *Method and Apparatus for Elasticity Imaging*. Patent US No. 5524636.
12. Zagaynova E.V., Shirmanova M.V., Kirillin M.Yu., Khlebtsov B.N., Orlova A.G., Balalaeva I.V., et al. *Phys. Med. Biol.*, **53**, 4995 (2008).
13. Kirillin M.Yu. et al. *J. Biomed. Opt.*, **14**, 021017 (2009).
14. Troutman T., Barton J.K., Romanowski M. *Opt. Lett.*, **32** (11), 1438 (2007).
15. Загайнова Е.В., Ширманова М.В., Каменский В.А., Кириллин М.Ю. и др. *Российские нанотехнологии*, **2** (7-8), 135 (2007).
16. Kah J.C.Y. et al. *J. Biomed. Opt.*, **14** (5), 054015 (2009).
17. Kuranov R.V., Sapozhnikova V.V., Turchin I.V., Zagaynova E.V., Gelikonov V.M., Kamensky V.A., et al. *Opt. Express*, **10**, 707 (2002).
18. Агрба П.Д., Кириллин М.Ю., Абелевич А.И., Загайнова Е.В., Каменский В.А. *Оптика и спектроскопия*, **107** (6), 903 (2009).
19. Meglinski I., Kirillin M., Kuzmin V., Myllylä R. *Opt. Lett.*, **33** (14), 1581 (2008).
20. Кириллин М.Ю., Приезжев А.В., Мюллер Р. *Квантовая электроника*, **38** (6), 570 (2008).
21. Тучин В.В. *Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях* (Саратов: изд-во Сарат. ун-та, 1998).
22. Knuttel A., Boehlau-Godau M. *J. Biomed. Opt.*, **5**, 83 (2000).
23. *Handbook of Optical Constants of Solids*. Ed. by E.D.Palik (Orlando: Acad. Press, 1985).
24. Gupta R.P., Wall T.F. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **14**, L95-8 (1981).
25. Johnson P.B., Christy R.W. *Phys. Rev. B*, **6**, 4370 (1972).