

# Мониторинг *in vitro* диффузии гиперосмотических агентов в нормальных и пораженных плоскоклеточным раком тканях пищевода человека с разрешением по глубине при помощи оптической когерентной томографии\*

Цинлян Жао, Жуи Гуо, Хуаджан Вей, Хонцин Янг, Шусен Кси

*Исследован мониторинг с разрешением по глубине, дифференциацией и количественным определением диффузии глюкозы в здоровых и аномальных тканях пищевода *in vitro*. Эксперименты проводились на нормальных тканях пищевода и тканях, пораженных плоскоклеточным раком (ПКР) с использованием оптической когерентной томографии (ОКТ). В эксперименте изображения непрерывно регистрировались в течение 120 мин. Средние и с разрешением по глубине коэффициенты проницаемости 40 %-ного раствора глюкозы были рассчитаны с помощью метода амплитуды ОКТ (АОКТ). Продемонстрирована пригодность метода ОКТ для мониторинга с дифференциацией и количественным определением диффузии глюкозы в нормальных тканях пищевода и тканях, пораженных ПКР. Обнаружено, что коэффициент проницаемости 40 %-ного раствора глюкозы через эти ткани неоднороден и увеличивается от  $(3.30 \pm 0.09) \times 10^{-6}$  и  $(1.57 \pm 0.05) \times 10^{-5}$  см/с на слизистой оболочке нормального пищевода и ткани, пораженной ПКР, до  $(1.82 \pm 0.04) \times 10^{-5}$  и  $(3.53 \pm 0.09) \times 10^{-5}$  см/с на подслизистом слое на расстоянии  $\sim 742$  мкм от поверхности эпителия нормального пищевода и ткани, пораженной ПКР, соответственно.*

**Ключевые слова:** гиперосмотические агенты, глюкоза, проницаемость, нормальный пищевод человека, плоскоклеточный рак пищевода, оптическая когерентная томография.

## 1. Введение

Рак пищевода – одна из самых опасных разновидностей рака. По смертности он занимает шестое место среди других злокачественных заболеваний [1]. Рак пищевода существует в двух основных формах с различными этиологическими и патологическими характеристиками: плоскоклеточный рак (ПКР) пищевода и аденокарцинома пищевода [2]. В Китае ПКР пищевода является преобладающим гистологическим подтипом рака пищевода, в то время как аденокарцинома чаще встречается в странах Запада [3]. При ранней диагностике рака пищевода с помощью усовершенствованных систем удается значительно снизить как заболеваемость этим раком, так и смертность от него [4]. Обычно для обнаружения злокачественных новообразований пищевода используется эндоскопия, однако пораженные участки ткани не всегда видны невооруженным глазом при эндоскопии на ранних стадиях дисплазии, что делает биопсию случайной, неэффективной, дорогостоящей и весьма ненадежной [5, 6]. Существует настоятельная необходимость в усовершенствованном методе количественной оптической диагностики рака пищевода [7, 8].

\* Перевод с англ. В.Л.Дербова.

**Qingliang Zhao, Zhouyi Guo, Huajiang Wei.** MOE Key Laboratory of Laser Life Science & Institute of Laser Life Science, College of Biophotonics, South China Normal University, Guangzhou 510631, China; e-mail: zephanzql@yeah.net, guozhouyiyi@yahoo.com.cn, weihj@scnu.edu.cn

**Hongqin Yang, Shusen Xie.** Key Laboratory of Optoelectronic Science and Technology for Medicine of Ministry of Education of China, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, Fujian, China; e-mail: hqyang@fjnu.edu.cn, sxxie@fjnu.edu.cn

Поступила в редакцию 25 января 2011 г., после доработки – 25 апреля 2011 г.

Разработка усовершенствованных оптических методов для функционального мониторинга и количественного определения молекулярного переноса в эпителиальных тканях, а также для управления оптическими свойствами ткани предельно важна для многих биомедицинских приложений, включающих в себя терапию, диагностику и улучшенную визуализацию изменений в тканях при таких разрушительных заболеваниях, как рак, атеросклероз, диабетическая ретинопатия и глаукома [9]. С момента разработки оптической когерентной томографии (ОКТ) [10] этот метод широко применялся во многих областях биомедицины [11–13]. «Быстрые» методы диагностики тканей важны для профилактики и лечения рака. ОКТ представляет собой сравнительно новую оптическую неинвазивную технологию получения изображений с высоким разрешением для биологии и медицины, которая в настоящее время переходит от лабораторных исследований к клинической практике [14]. В то же время ОКТ широко применяется для обнаружения рака различных частей тела, включая молочную железу [15], желудочно-кишечный тракт [16], мочевой пузырь [17], кожу [18], полость рта [19], шейку матки [20], легкие [21] и мозг [22]. Однако мутность большинства биологических тканей препятствует полной реализации возможностей ОКТ в различных диагностических и терапевтических процедурах.

Большинство биологических тканей сильно рассеивают зондирующий свет в видимом и ближнем ИК диапазонах. Многократное рассеяния света губительно для разрешения и контраста изображения и ограничивает эффективную глубину зондирования в методах высокоразрешающей визуализации [23]. Было предпринято несколько попыток увеличить глубину визуализации и уменьшить рассеяние в ткани с целью более эффективной клинической диагностики. Метод оптической иммерсии (оптического просветления) часто используется для уменьшения

рассеяния путем местного применения биосовместимых химических, оптически просветляющих агентов (ОПА) [24–33]. Типичными ОПА являются глицерин, диметилсульфоксид (ДМСО), глюкоза, тразограф (контрастное вещество для рентгеноскопии) и комбинации полимеров, таких как пропиленгликоль и полиэтиленгликоль [34–41]. Показатель преломления этих агентов варьируется от 1.43 до 1.47 [29]. Глюкоза как гиперосмотический агент использовалась во многих исследованиях для увеличения глубины проникновения света в сильно рассеивающие ткани при получении изображений с помощью ОКТ ближнего ИК диапазона [38, 42–48].

Многие заболевания могут изменять физиологическую структуру ткани и таким образом влиять на скорость проникновения молекул в ткань. С учетом этого изменение проницаемости ткани по отношению к химическим соединениям и веществам, определяемым при анализе, можно использовать для дифференциации аномальных и здоровых тканей, что составляет потенциальную основу для разработки новых методов ранней диагностики [49]. Как было недавно показано, метод ОКТ также является полезным для мониторинга с количественным определением коэффициента проницаемости различных лекарств и химических веществ в различных биологических тканях (таких, например, как молочная железа, склера, роговица и аорта) *in vitro* или *in vivo* [50–53]. Данный метод пригоден для определения скорости диффузии глюкозы в склере с разрешением по глубине  $\sim 40$  мкм [51]. Эти результаты свидетельствуют о возможности успешного применения ОКТ для функциональной визуализации и определения скорости диффузии в тканях различных типов.

В настоящей работе приведены результаты наших пилотных исследований мониторинга с дифференциацией и количественным определением диффузии 40%-ного раствора глюкозы с разрешением по глубине в тканях *ex vivo* нормального пищевода человека и тканях, пораженных ПКР, с помощью метода ОКТ. Проведено также сравнение характеристик диффузии глюкозы в этих тканях. Данный метод может быть полезен при обнаружении, исследовании и лечении рака пищевода, может лежать в основе его ранней диагностики, а также использоваться для достижения наилучшего возможного контроля глюкозы.

## 2. Эксперимент

### 2.1. Материалы

С согласия больных с диагнозом ПКР, проходящих контрольную эндоскопию, 16 свежих образцов ткани их пищеводов были исследованы посредством систематической биопсии во Второй клинической больнице – филиале Университета традиционной китайской медицины г. Гуанчжоу (Китай). Образцы были разделены на две группы: контрольную (восемь образцов, взятых с удаленного края ткани, пораженной ПКР) и опухолевую (восемь образцов, взятых из центра ткани, пораженной ПКР). Методы получения и анализа отраженных от ткани эпителия сигналов были описаны ранее [54]. Ткани промывались нормальным физиологическим раствором, образцы приготавливались непосредственно после удаления тканей в ходе операции. Приготовление образцов и проведение измерений осуществлялось в течение одного часа, чтобы гарантировать минимальные изменения физиологического состояния тканей после удаления. Непосредственно перед

ОКТ-экспериментами избышек крови удалялся путем промывания в физиологическом растворе. В процессе эксперимента комнатная температура поддерживалась равной  $20^\circ\text{C}$ . Базовая линия отсчета в образцах регистрировалась в течение 7–10 мин до аппликации раствора глюкозы. Регистрация ОКТ-изображений проводилась непрерывно в течение 120 мин после введения гиперосмотического агента – глюкозы. Местное применение раствора глюкозы и функциональная ОКТ-визуализация осуществлялись для нормальных тканей пищевода и тканей, пораженных ПКР. Раствор глюкозы с концентрацией 40 вес.% приготавливался растворением 40 г глюкозы в 100 мл дистиллированной воды. Глюкоза была приобретена на фабрике химических реагентов Tianjin Damao (Китай).

### 2.2. ОКТ-система

В экспериментах использовалась портативная ОКТ-система с длиной волны  $\lambda = 1.310$  нм, временным разрешением и с полностью автоматическим управлением от компьютера. Эта система обеспечивала ширину полосы  $\sim 50$  нм и аксиальное пространственное разрешение 10–15 мкм. Поперечное разрешение системы было равно  $\sim 25$  мкм и определялось размером фокального пятна зондирующего пучка. Измеренное отношение сигнал/шум данной системы составило  $\sim 100$  дБ. Для юстировки зондирующего пучка использовался источник видимого излучения ( $\lambda = 645$  нм). Сканирование в опорном плече обеспечивало эффективное изменение глубины зондирования, а точечная запись интерференционного сигнала генерировала аксиальный скан (А-скан), состоящий из 10000 точек. Латеральное сканирование (В-скан) осуществлялось смещением зеркала относительно образца ткани, которое продолжалось  $\sim 1$  с. Двумерные изображения усреднялись в латеральном (ось  $x$ ) направлении с интервалом  $\sim 1$  мм, что было достаточно для подавления спекл-шума, для получения единого ОКТ-сигнала, представляющего собой одномерное распределение интенсивности зондирующего излучения по глубине. Схема ОКТ-системы приведена в работе [55].

### 2.3. Методы

Коэффициенты проницаемости глюкозы в нормальной ткани пищевода человека и в ткани, пораженной ПКР, рассчитывались по методу амплитуды ОКТ (АОКТ) для различных глубин [56–60]. Метод АОКТ использовался для расчета коэффициентов проницаемости  $P_g$  40%-ного раствора глюкозы на каждой из конкретных глубин в тканях нормального пищевода человека и в ткани, пораженной ПКР:

$$P_g(z) = z/t_z,$$

где  $z$  – глубина, на которой проводились измерения (отсчитываемая от передней поверхности тканей);  $t_z$  – время диффузии глюкозы на эту глубину. Время  $t_z$  отсчитывалось от момента аппликации глюкозы на ткань до начала вызванного глюкозой изменения амплитуды сигнала [10, 51]. Двумерные изображения усреднялись в латеральном направлении (ось  $x$ ) для получения единого ОКТ-сигнала, представляющего собой одномерное распределение интенсивности зондирующего излучения по глубине (рис.1). Такие же методы использовались для изучения диффузии химических веществ в тканях аорты, роговицы и склеры [9, 50, 61, 62], а также в раковых тканях [63].

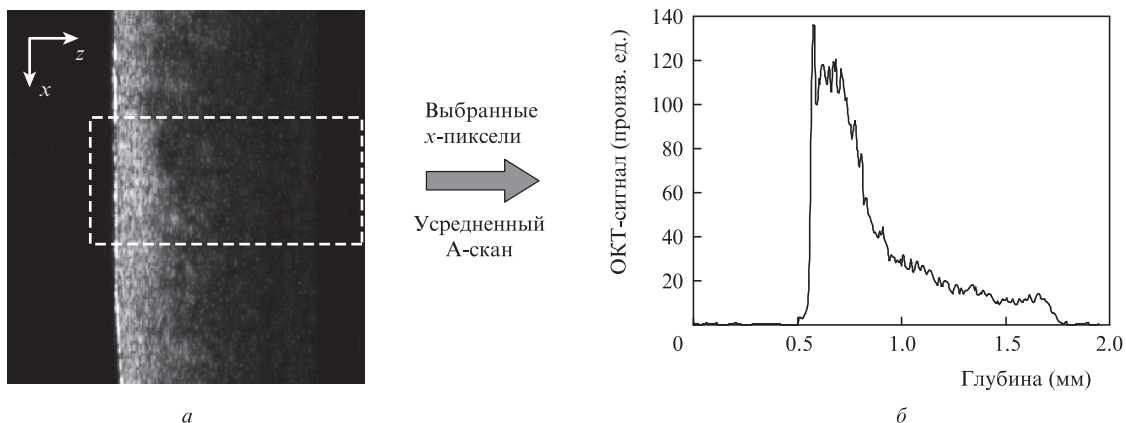


Рис.1. Типичное двумерное ОКТ-изображение ткани пищевода человека, пораженной ПКР, через 20 мин после аппликации 40%-ного раствора глюкозы (а) и соответствующие одномерные ОКТ-сигналы (б). На рис.1,а горизонтальная ось отвечает глубине, а вертикальная ось – латеральной ширине изображения.

**2.4. Статистический анализ**

Данные, полученные для всех образцов, представлялись как «среднее ± стандартное отклонение» и анализировались по парному критерию. Весь статистический анализ выполнялся с применением статистического компьютерного пакета SPSS 10.0 для Windows.

**3. Результаты и их обсуждение**

С использованием ОКТ был проведен мониторинг 16 образцов ткани пищевода на различной их глубине. О мониторинге процесса диффузии гиперосмотических агентов в тканях организма человека с помощью ОКТ сообщалось ранее [51, 61, 62]. На рис.2 показаны ОКТ-изображения нормальных тканей пищевода (рис.2,а-з) и тканей, пораженных ПКР (рис.2,д-з), через 0, 20, 40 и 60 мин после аппликации глюкозы соответственно. Оптическое просветление значительно улучшает ОКТ-визуализацию нормальных и раковых тканей пищевода человека в отношении как глубины проникновения света, так и качества визуализации (рис.2). Однако нужно отметить, что оптическое просветление постепенно улучшается по мере диффузии глюкозы в межклеточное пространство нормальных тканей пищевода и тканей, пораженных ПКР,

что занимает определенное время. Это изменение связано с тем, что при локальной аппликации ОПА диффундирует в ткань, что вызывает согласование показателей преломления рассеивателей и окружающей среды и эффективно ослабляет рассеяние света в ткани [23, 30]. По мере диффузии глюкозы от поверхностных слоев ткани к более глубоким слоям рассеяние назад уменьшается за счет уменьшения разности показателей преломления на границах жидкости с тканью, и большее число фотонов может достичь глуболежащих слоев ткани. Из сравнения рис.2,а,б,в,г с рис.2,д,е,ж,з соответственно видно, что в нормальной ткани пищевода рассеяние сильнее, чем в ткани, пораженной ПКР. Более сильное рассеяние, возможно, связано с более крупными ядрами, большим ядерно-плазменным отношением у клеток опухоли и большей локальной плотностью этих клеток [15]. Эти результаты означают, что глюкоза может значительно усилить сигнал ОКТ не только в нормальных тканях пищевода, но и в тканях, пораженных ПКР, и, следовательно, стать полезным средством увеличения оптического контраста и глубины визуализации в оптических методах получения изображений, включая ОКТ.

На рис.3,а показан сигнал ОКТ как функция времени, регистрируемый в процессе диффузии глюкозы. Для количественного определения коэффициента проницаемости

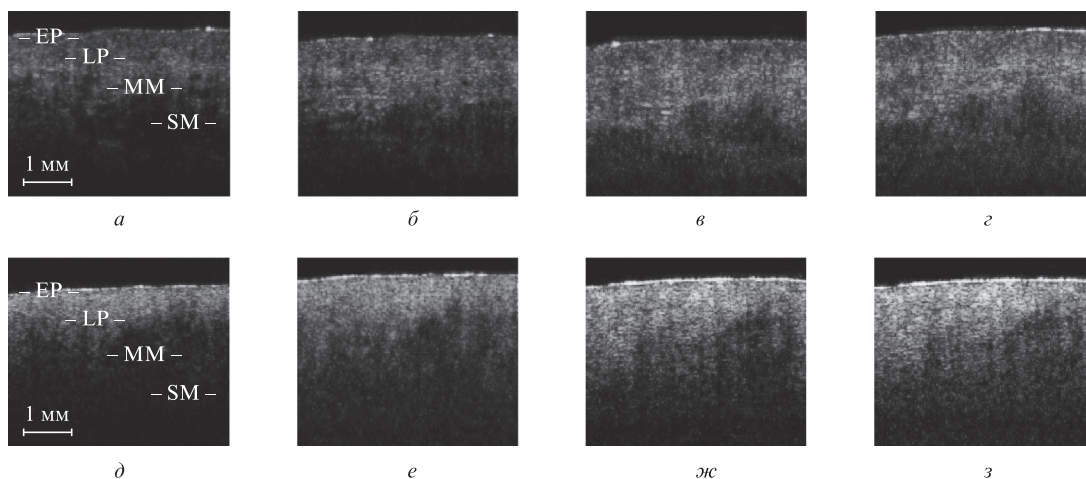


Рис.2. ОКТ-изображения нормальной ткани пищевода человека (а, б, в, г) и ткани, пораженной ПКР (д, е, ж, з) через 0, 20, 40 и 60 мин после аппликации 40%-ного раствора глюкозы соответственно: EP – эпителий, LP (lamina propria) – собственный слой, MM – слизистая оболочка, SM – подслизистая.

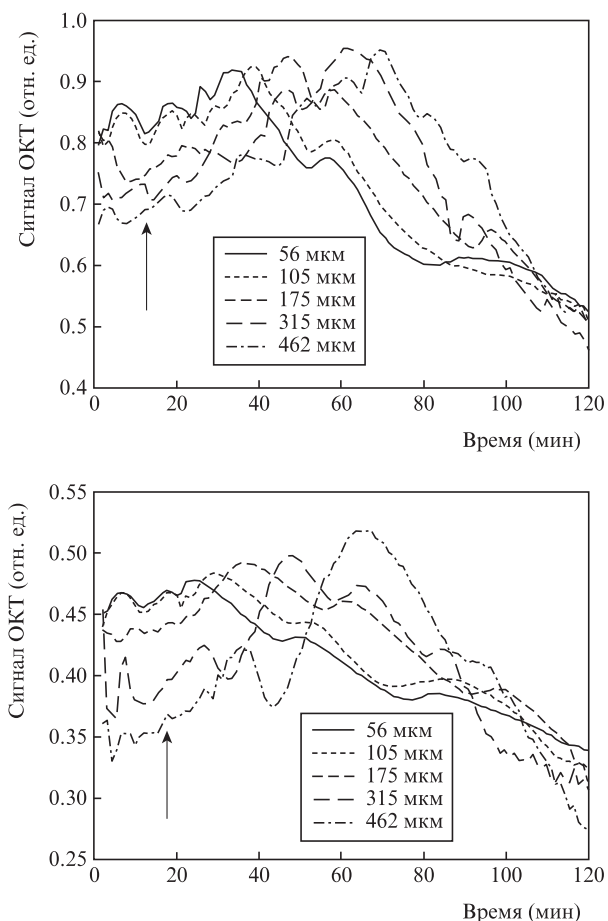


Рис.3. Сигнал ОКТ как функция времени, измеренный на различной глубине в процессе диффузии глюкозы в нормальной ткани пищевода (а) и ткани, пораженной ПКР (б). Стрелками отмечены моменты аппликации глюкозы.

глюкозы были выбраны глубины мониторинга 56, 105, 175, 315 и 462 мкм от поверхности тканей. Видно, что до достижения фронтом диффузии определенной для мониторинга глубины сигнал ОКТ имеет тенденцию к убыванию. В то же время он постепенно растет с ростом глубины по мере диффузии глюкозы в межклеточное пространство, что может быть связано с уменьшением рассеяния из-за согласования показателей преломления в толще ткани, вызванного локальным ростом концентрации глюкозы [25, 34, 38, 61, 64]. На рис.3,б представлен сигнал ОКТ в зависимости от времени, измеренный на глубине 56, 105, 175, 315 и 462 мкм от поверхности тканей, пораженных ПКР, в процессе диффузии 40%-ного раствора глюкозы. Для обеспечения возможности сравнения характеристик проницаемости глюкозы в нормальных тканях пищевода и в тканях, пораженных ПКР, глубина мониторинга была выбрана одинаковой. Пищевод человека, как видно из гистологических срезов [65, 66], состоит из следующих слоев, начиная с поверхности: железистый эпителий, слизистая оболочка, подслизистая, собственный мышечный слой. На рис.3 видна временная задержка, с которой фронт диффузии достигает различных глубин в нормальной ткани пищевода и ткани, пораженной ПКР.

Положения фронтов распространения глюкозы определялись путем разрешенного по глубине мониторинга методом АОКТ индуцированных глюкозой изменений для нормальных тканей пищевода и тканей, пораженных ПКР. Тенденции изменения сигнала ОКТ на различной глуби-

не от тканей, пораженных ПКР, при диффузии 40%-ного раствора глюкозы такие же, как и от нормальных тканей пищевода. Сигнал ОКТ также снижается перед появлением фронта раствора глюкозы на различных глубинах мониторинга образца ткани, а затем постепенно растет по мере диффузии глюкозы. Изменения ОКТ-сигнала, вызванные раствором глюкозы в нормальных тканях пищевода и тканях, пораженных ПКР (см. рис.3), сильно различаются на одной и той же глубине. Было обнаружено, что сигнал ОКТ больше для нормальной ткани пищевода, чем для ткани, пораженной ПКР.

Высокое разрешение метода АОКТ по глубине позволило рассчитать коэффициенты проницаемости на различной глубине образцов биоткани [51]. На рис.4,а приведены типичные коэффициенты  $P_g$  проницаемости глюкозы в нормальной ткани пищевода. Видно, что коэффициент проницаемости изменяется нелинейно и растет от  $(3.30 \pm 0.09) \times 10^{-6}$  см/с в слизистой оболочке пищевода до  $(1.82 \pm 0.05) \times 10^{-5}$  см/с в подслизистом слое на расстоянии  $\sim 742$  мкм от эпителиального слоя. На рис.4,б представлены коэффициенты проницаемости глюкозы, измеренные на различной глубине тканей, пораженных ПКР. Было обнаружено, что коэффициент проницаемости растет от  $(1.57 \pm 0.04) \times 10^{-5}$  см/с в слизистой оболочке тканей до  $(3.53 \pm 0.09) \times 10^{-5}$  см/с в подслизистом слое на расстоянии  $\sim 742$  мкм от поверхности эпителия тканей, пораженных ПКР. Эти результаты показывают также, что с помощью ОКТ можно не только измерять скорость диффузии хими-

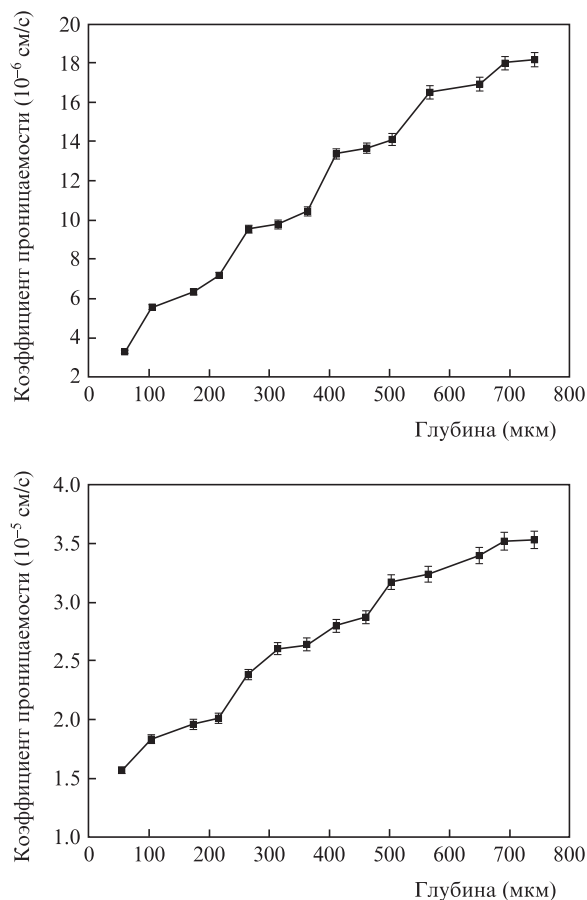


Рис.4. Коэффициенты проницаемости, измеренные на различной глубине в нормальной ткани пищевода (а) и ткани, пораженной ПКР (б), при диффузии 40%-ного раствора глюкозы. Показаны стандартные отклонения величин коэффициента проницаемости.

ческих веществ в заданных областях и на заданных глубинах в различных типах ткани пищевода, но и различать нормальную и злокачественную ткани пищевода человека.

Результаты определения скорости диффузии 40%-ного раствора глюкозы с разрешением по глубине, представленные на рис.4, говорят о том, что коэффициенты проницаемости в нормальных тканях пищевода и тканях, пораженных ПКР, постепенно увеличиваются с ростом глубины, причем нелинейно. Эта нелинейность объясняется диффузией глюкозы, по крайней мере, через два слоя: слизистую оболочку (медленная диффузия) и подслизистый слой (более быстрая диффузия). Состав слоев и их толщины также вносят вклад в регистрируемые кривые (рис.4), поскольку они могут быть различными на разной глубине [54]. При сравнении рис.4,а и б обнаружено заметное различие между нормальной тканью пищевода и тканью, пораженной ПКР, а именно: коэффициент проницаемости 40%-ного раствора глюкозы для раковых тканей выше, чем для нормальной ткани пищевода на той же глубине. Однако коэффициент проницаемости для раковых тканей изменяется медленнее, чем для нормальной ткани пищевода. Различие в скоростях диффузии, как нам представляется, обусловлено участием глюкозы в двух различных процессах диффузии в различные интервалы времени в двух различных тканях пищевода человека. Экспериментальные результаты мониторинга диффузии глюкозы с разрешением по глубине и результаты расчета коэффициента проницаемости в нормальных тканях пищевода человека и тканях, пораженных ПКР, с применением метода ОКТ не только позволяют понять механизм процесса диффузии глюкозы, но и убеждают в том, что АОКТ является эффективным методом измерения коэффициента проницаемости в заданных областях и на различных глубинах в ткани пищевода. Ограничения чувствительности используемой ОКТ-системы связаны с высоким уровнем спекл-шума и ограниченным разрешением. В будущем мы проведем исследования ОКТ-систем сверхвысокого разрешения, которые позволят уменьшить стандартное отклонение измеряемого коэффициента проницаемости глюкозы и выбрать оптимальную для использования в ОКТ концентрацию глюкозы, соответствующую различным стадиям рака.

#### 4. Заключение

В данной работе продемонстрирована возможность мониторинга, дифференциации и количественного определения диффузии глюкозы с разрешением по глубине в нормальных тканях пищевода человека и тканях, пораженных ПКР, с использованием ОКТ для функциональной визуализации. С помощью ОКТ-визуализации изучен эффект оптического просветления, который постепенно улучшает качество изображения по мере того, как глюкоза диффундирует в нормальную ткань пищевода и ткань, пораженную ПКР. Полученные результаты свидетельствуют о пригодности ОКТ для функциональной визуализации нормальных тканей пищевода человека и тканей, пораженных ПКР, с целью количественного определения проницаемости биомолекул через эти ткани. Обнаружено, что проницаемость глюкозы нелинейно меняется по толщине ткани и увеличивается с ростом глубины в нормальных тканях пищевода и тканях, пораженных ПКР. Представленные результаты могут служить доказательством полезности использования ОКТ для функциональ-

ной визуализации тканей пищевода и диагностики его раковых заболеваний.

Настоящая работа поддержана Национальным фондом естественных наук Китая (грант №60778047), Фондом естественных наук провинции Гуаньдонг (грант №06025080), Ключевым научно-техническим проектом провинции Гуаньдонг (гранты №2005B50101015 и 2008B090500125) и Ключевым научно-техническим проектом г. Гуаньджоу (грант №2008Z1-D391).

1. Edwards B.K., Howe H.L., Ries L.A., Thun M.J., Rosenberg H.M., Yancik R., Wingo P.A., Jemal A., Feigal E.G. *Cancer*, **94**, 2766 (2002).
2. Parkin D.M., Bray F., Ferlay J., Pisani P. *Int. J. Cancer*, **94**, 153 (2001).
3. Du X.L., Hu H., Lin D.C., Xia S.H., Shen X.M., Zhang Y., Luo M.L., Feng Y.B., Cai Y., Xu X., Han Y.L., Zhan Q.M., Wang M.R. *J. Mol. Med.*, **85**, 863 (2007).
4. Wang Q., Yang H., Agrawal A., Wang N.S., Pfefer T.J. *Opt. Express*, **16**, 8685 (2008).
5. Inoue H., Fukami N., Yoshida T. *J. Gastroen. Hepatol.*, **17**, 382 (2002).
6. Tachimori Y.J., Kato H.C. *Critical Reviews in Oncology: Hematology*, **28**, 57 (1998).
7. Parkin D.M., Laara E., Muir C.S. *Int. J. Cancer*, **41**, 184 (1988).
8. Sleisenger M.H., Fordtran J.S. (Eds) *Gastrointestinal Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management* (Philadelphia, W.B.Saunders Co., 1989).
9. Ghosn M.G., Carbajal E.F., Befrui N.A., Tuchin V.V., Larin K.V. *Opt. Lasers Eng.*, **46**, 911 (2008).
10. Ghosn M.G., Tuchin V.V., Larin K.V. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **48**, 2726 (2007).
11. 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).
12. Fercher A.F., Drexler W., Hitzenberger C.K. *Rep. Prog. Phys.*, **66**, 239 (2003).
13. Podoleanu A.G. *Br. J. Radiol.*, **78**, 976 (2005).
14. Boppart S.A. *Minerva Biotec.*, **16**, 211 (2004).
15. Boppart S.A., Luo W., Marks D.L., Singletary K.W. *Breast Cancer Research and Treatment*, **84**, 85 (2004).
16. Pitris C., Jessor C., Boppart S.A., Stamper D., Brezinski M.E., Fujimoto J.G. *J. Gastroenterology*, **35**, 87 (2000).
17. Zagaynova E., Manyak M.J., Streltsova O., Gladkova N., Feldchtein F., Kamensky V. *J. Clinical Oncology*, **22**, 4538 (2004).
18. Gambichler T., Regeniter P., Bechara F.G., Orlikov A., Vasa R., Moussa G., Stucker M., Altmeyer P., Hoffmann K. *J. Am. Acad. Dermatol.*, **57**, 629 (2007).
19. Wong H.K., Gu S.G., Hammer-Wilson M.J., Epstein J.B., Chen Z.P., Smith P.W. *J. Biomed. Opt.*, **12**, 1 (2007).
20. Escobar P.F., Rojas-Espaillet L., Tisci S., Enerson C., Brainard J., Smith J., Tresser N.J., Feldchtein F.I., Rojas L.B., Belinson J.L. *Int. J. Gynecological Cancer*, **16**, 1815 (2006).
21. Whiteman S.C., Yang Y., Van Pittius D.G., Stephens M., Parmer J., Spiteri M.A. *Clinical Cancer Research*, **12**, 813 (2006).
22. Bohringer H.J., Boller D., Leppert J., Knopp U., Lankenau E., Reusche E., Huttman G., Giese A. *Lasers Surg. Med.*, **38**, 588 (2006).
23. Wang R.K., Tuchin V.V. *J. X-Ray Sci. Technol.*, **10**, 167 (2002).
24. Tuchin V.V. *J. Phys. D: Appl Phys.*, **38**, 2497 (2005).
25. Tuchin V.V. *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, **13**, 1621 (2007).
26. Galanzha E.I., Tuchin V.V., Solovieva A.V., Stepanova T.V., Luo Q., Cheng H. *J. Phys. D: Appl Phys.*, **36**, 1739 (2003).
27. Tomlins P.H., Wang R.K. *Phys. Med. Biol.*, **47**, 2281 (2002).
28. Wang R.K., Xu X.Q., He Y.H., Elder J.B. *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, **9**, 234 (2003).
29. Choi B., Tsu L., Chen E., Ishak T.S., Iskandar S.M., Chess S., Nelson J.S. *Lasers Surg. Med.*, **36**, 72 (2005).
30. Stumpp O.F., Welch A.J., Milner T.E., Neev J. *Lasers Surg. Med.*, **37**, 278 (2005).
31. Proskurin S.G., Meglinski I.V. *Laser Phys. Lett.*, **4**, 824 (2009).
32. Larina I.V., Carbajal E.F., Tuchin V.V., Dickinson M.E., Larin K.V. *Laser Phys. Lett.*, **5**, 476 (2008).
33. Petrova G.A., Derpalyuk E., Gladkova N.D., Feldchtein F.I., Nikulin N., Donchenko E., Gelikonov V.M., Kamensky V.A. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **5140**, 168 (2003).

34. Vargas G., Chan E.K., Barton J.K., Rylander H.G., Welch A.J. *Lasers Surg. Med.*, **24**, 133 (1999).
35. Vargas G., Chan K.F., Thomsen S.L., Welch A.J. *Lasers Surg. Med.*, **29**, 213 (2001).
36. Khan M.H., Chess S., Choi B., Kelly K.M., Nelson J.S. *Lasers Surg. Med.*, **35**, 93 (2004).
37. Khan M.H., Choi B., Chess S., Kelly K.M., McCullough J., Nelson J.S. *Lasers Surg. Med.*, **34**, 83 (2004).
38. Tuchin V.V., Maksimova I.L., Zimnyakov D.A., Kon I.L., Mavlutov A.H., Mishin A. *J. Biomed. Opt.*, **2**, 401 (1997).
39. Xu X., Wang R.K. *Phys. Med. Biol.*, **49**, 457 (2004).
40. Wang R.K., Xu X., Tuchin V.V., Elder J.B. *J. Opt. Soc. Am.*, **18**, 948 (2001).
41. Tuchin V.V. *J. Phys. D: Appl Phys.*, **38**, 2497 (2005).
42. Tuchin V.V. *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis* (Bellingham, WA, SPIE Press, 2000, PM166).
43. Maier J.S., Walker S.A., Fantini S., Franceschini M.A., Gratton E. *Opt. Lett.*, **19**, 2062 (1994).
44. Kohl M., Cope M., Essenpreis M., Bocker D. *Opt. Lett.*, **19**, 2170 (1994).
45. Bruulsema J.T., Hayward J.E., Farrell T.J., Patterson M.S., Heinemann L., Berger M., Koschinsky T., Sandahl-Christiansen J., Orskov H., Essenpreis M., Schmelzeisen-Redeker G., Bückner D. *Opt. Lett.*, **22**, 190 (1997).
46. Tuchin V.V., Zimnyakov D.A., Pravdin A.B. *Proc. SPIE. Int. Soc. Opt. Eng.*, **4001**, 30 (2000).
47. Tuchin V.V. *Proc. SPIE. Int. Soc. Opt. Eng.*, **4162**, 1 (2000).
48. Bashkatov A.N., Genina E.A., Korovina I.V., Kochubey V.I., Sinichkin Y.P., Tuchin V.V. *Proc. SPIE. Int. Soc. Opt. Eng.*, **4224**, 300 (2000).
49. Ghosn M.G., Carbajal E.F., Befruai N., Tellez A., Granada J.F., Larin K.V. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 1 (2008).
50. Zhong H.Q., Guo Z.Y., Wei H.J., Zeng C.C., Xiong H.L., He Y.H., Liu S.H. *Laser Phys. Lett.*, **6**, 1 (2009).
51. Ghosn M.G., Tuchin V.V., Larin K.V. *Opt. Lett.*, **31**, 2314 (2006).
52. Larin K.V., Ghosn M.G., Ivers S.N., Tellez A., Granada J.F. *Laser Phys. Lett.*, **4**, 312 (2007).
53. Perelman L.T., Backman V., Wallace M., Zonios G., Manoharan R., Nusrat A., Shields S., Seiler M., Lima C., Hamano T., Itzkan I., VanDam J.J., Crawford J.M., Feld M. *Phys. Rev. Lett.*, **80**, 627 (1998).
54. Ларин К.В., Гхоcн М.Г. *Квантовая электроника*, **36**, 1083 (2006).
55. Dong H.X., Guo Z.Y., Zeng C.C., Zhong H.Q., He Y.H., Wang R.K., Liu S.H. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 1 (2008).
56. Larin K.V., Motamedi M., Ashitkov T.V., Esenaliev R.O. *Phys. Med. Biol.*, **48**, 1371 (2003).
57. Yeh A.T., Hirshburg J. *J. Biomed. Opt.*, **11**, 1 (2006).
58. Larin K.V., Eledrisi M.S., Motamedi M., Esenaliev R.O. *Diabetes Care*, **25**, 2263 (2002).
59. He Y.H., Wang R.K. *J. Biomed. Opt.*, **9**, 200 (2004).
60. Esenaliev R.O., Larin K.V., Larina I.V., Motamedi M. *Opt. Lett.*, **26**, 992 (2001).
61. Ларин К.В., Тучин В.В. *Квантовая электроника*, **38**, 551 (2008).
62. Ghosn M.G., Leba M., Vijayananda A., Rezaee P., Morrisett J.D., Larin K.V. *J. Biophoton.*, **3**, 25 (2009).
63. Xiong H.L., Guo Z., Zeng C., Wang L., He Y., Liu S. *J. Biomed. Opt.*, **14**, 1 (2009).
64. Wang R.K., Elder J.B. *Lasers Surg. Med.*, **3**, 201 (2002).
65. Poneros J.M., Brand S., Bouma B.E., Tearney G.J., Compton C.C., Nishioka N.S. *Gastroenterology*, **120**, 7 (2001).
66. Çilesiz I., Fockens P., Kerindongo R., Faber D., Tytgat G., Kate F.T., Leeuwen T.V. *Gastrointestinal Endoscopy*, **56**, 852 (2002).