

# Динамический мониторинг проникновения света в нормальные, доброкачественные и раковые ткани легких человека при различной концентрации глицерина методом оптической когерентной томографии\*

Шу-вэнь Тан, Джинг Инь, Хуи Ю, Гуо-йонг Ву

*Проведены оценка динамических эффектов при диффузии анализируемой компоненты в глубине нормальной, доброкачественной и злокачественной легочных тканей человека in vitro, а также мониторинг и количественная оценка динамических изменений в глубинах проникновения света для тех же тканей после нанесения на них 25%-ного и 50%-ного растворов глицерина. Глубины проникновения света при диффузии анализируемой компоненты в легочной ткани измерялись методом оптической когерентной томографии в фурье-области. Экспериментальные результаты показывают, что применение глицерина в качестве химического агента может значительно увеличить глубины проникновения света в нормальную легочную (NL), доброкачественную (гранулематоз) легочную (LBG) и раковую (плоскоклеточный рак) легочную (LSCC) ткани человека. Глубинный транспорт молекул глицерина в этих тканях при более низкой концентрации глицерина (25%) был быстрее, чем при более высокой (50%), а глубины проникновения света в первом случае были меньше, чем во втором. Различия в максимальных глубинах проникновения света при высокой и низкой концентрациях глицерина для NL, LBG и LSCC тканей составляли 8.8%, 6.8% и 4.7% соответственно.*

**Ключевые слова:** диффузия глицерина, глубина проникновения света, легочная ткань человека, пораженная легочная ткань человека, оптическая когерентная томография в фурье-области.

## 1. Введение

Видимое, ближнее ИК и УФ излучения широко используются в фототерапевтических и диагностических методах [1–4]. Однако глубина проникновения света все еще ограничена несколькими сантиметрами из-за его сильного рассеяния в тканях человека, что не допускает визуализации более глубоких микроструктур. Для увеличения глубины визуализации при современном высоком разрешении методов оптической визуализации необходимо снизить рассеяние света в ткани [5]. Биологические ткани являются оптически неоднородными и поглощающими средами. Когда визуализация проводится с использованием ближнего ИК излучения, доминирующим процессом, который ограничивает глубину визуализации и контраст, является рассеяние, а не поглощение. Надежно установлено, что рассеяние света определяется положе-

нием и формой рассеивателей, а также их размером по отношению к длине волны падающего света [6]. Как следствие, для того чтобы увеличить глубину проникновения света в ткань человека, рассеяние ткани необходимо уменьшить на время проведения диагностики, т. е. в течение этого времени верхние слои ткани должны быть оптически прозрачными [6]. Турбулентностью рассеивающей физической системы можно эффективно управлять с помощью метода оптической иммерсии, основанного на концепции согласования показателей преломления рассеивателей и основного материала [7–9]. Эта техника, хорошо известная в оптике рассеивающих физических систем, успешно применялась в 1950–1970 гг. при изучении клеток и микроорганизмов методом фазовой микроскопии [7–12] и может рассматриваться в качестве нового подхода при оптическом исследовании тканей, особенно для контрастирования изображений живых тканей и получения более точной спектроскопической информации из глубины тканей [13–23]. Другим способом управления оптическими свойствами рассеивающей системы является изменение параметров упаковки и/или размеров рассеивателей, что также используется при оптическом исследовании тканей [10,11]. Управление оптическими свойствами тканей in vivo важно для многих биомедицинских приложений [7–9]. Селективная прозрачность верхних слоев ткани – важнейший фактор при визуализации структурных и функциональных особенностей, в частности при обнаружении локальных статических или динамических неоднородностей, скрытых сильно рассеивающей средой. Было продемонстрировано заметное ослабление рассеяния за счет оптической иммерсии объемной ткани посредством внедрения внутрь ткани подходящего химического вещества [5–9].

Рак легких является главной причиной смертности от онкологических заболеваний во всем мире (почти 1.4 млн

\* Перевод с англ. В.В. Шувалова.

**Shu-wen Tan.** College of Biophotonics, South China Normal University, Guangzhou 510631, Guangdong Province, China; Chinese Medicine & Photonic Techniques Three Grade Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510631, Guangdong Province, China; Department of Animal Science, Foshan University, Nanhai 528231, Guangdong Province, China

**Ying Jin.** College of Biophotonics, South China Normal University, Guangzhou 510631, Guangdong Province, China; Chinese Medicine & Photonic Techniques Three Grade Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510631, Guangdong Province, China; e-mail: jinying@scnu.edu.cn

**Hui Yu.** Department of Animal Science, Foshan University, Nanhai 528231, Guangdong Province, China

**Guo-yong Wu.** Department of Surgery, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Поступила в редакцию 13 июня 2012 г., после доработки – 24 декабря 2012 г.

смертей в год) [24–26]. Из диагностируемых ежегодно 1.6 млн новых случаев заболевания раком легких около 220 тыс. случаев приходится на США [27]. Наблюдается снижение заболеваемости раком легких у мужчин, для женщин эта тенденция отмечена в США только совсем недавно. В противоположность этому во многих странах число случаев и смертей, связанных с раком легких, возрастает [24]. Также рак легких постепенно становится болезнью пожилых людей со средним возрастом на момент постановки диагноза около 70 лет [28]. Рак легких у большинства пациентов диагностируется на поздней стадии, что является основной причиной высокой смертности, связанной с этой болезнью. Поэтому раннее ее выявление является важным и жизненно необходимым для пациента.

В ряде исследований продемонстрировано, что глубина проникновения света в различные биоткани может быть значительно увеличена за счет использования оптически просветляющих веществ, таких как глицерин [29–31], глюкоза [32, 33], диметилсульфоксид [34–36] и т.д. Для изучения проникновения анализируемых веществ в биологические ткани применялось несколько методов визуализации [37], в том числе ультразвуковой [38], методы магнитно-резонансной визуализации [39], оптической проекционной томографии [40] и оптической когерентной томографии (ОКТ) [41–46]. Последний особенно привлекателен, поскольку он является неразрушающим неинвазивным методом и позволяет получать изображениями биологических тканей с высоким разрешением в режиме реального времени. ОКТ широко используется при исследованиях тканей [41–46]. Этот метод применялся для измерения проникновения различных молекул и материалов через различные эпителиальные ткани, такие как склера кролика [42], кожа обезьяны [43], роговица глаза кролика [44], аорта свиньи [43, 45, 46], кожа [47] и пищевод [48] человека. Глубина проникновения при использовании ОКТ составляет ~1–2 мм [49]. Хотя глубина визуализации для ОКТ больше, чем для оптической микроскопии, ограничения существуют и здесь, поскольку большинство биологических тканей сильно рассеивают зондирующее излучение в видимом и ближнем ИК диапазонах, т.е. в терапевтическом оптическом окне. Метод оптической иммерсии (метод оптического просветления) часто используется для ослабления рассеяния посредством местных применений биосовместимых химических веществ. Оптическое просветление может приводить к более глубокому проникновению света в ткани благодаря использованию оптически просветляющих веществ [4–6].

В настоящей работе гиперосмотические агенты в виде 25%-ного и 50%-ного растворов глицерина использовались для достижения более высоких разрешения и глубины визуализации при ОКТ в случае исследования нормальных легочных (NL), доброкачественных (гранулематоз) легочных (LBG) и раковых (плоскоклеточный рак) легочных (LSCC) тканей человека. Были установлены количественные различия в глубинах проникновения света при диффузии *in vitro* 25%-ного и 50%-ного растворов глицерина в указанных тканях человека.

## 2. Материалы и методы

Эксперименты проводились с использованием системы ОКТ в фурье-области. Схема ОКТ-системы представлена в [50]. Основным ее компонентом является оптоволоконный интерферометр Майкельсона. В качестве ис-

точника света использовался широкополосный суперлюминесцентный диод с выходной мощностью 5 мВт, центральной длиной волны 830 нм и шириной полосы 40 нм. Пучок излучения диода расщепляется на два пучка одинаковой мощности оптоволоконным элементом связи. Один из пучков направляется в опорное плечо интерферометра, а другой с помощью фокусирующей оптики – к резецированному образцу легкого. Моторизованный транслятор с высоким пространственным разрешением контролирует движение зеркала. Свет, рассеянный назад визуализируемым образцом, смешивается со светом, отраженным от опорного плеча, и создает интерференционный сигнал только в том случае, если оптическая разность хода двух пучков находится в пределах длины когерентности суперлюминесцентного диода. Суперпозиция излучений от рассеивающего назад образца и опорного плеча интерферометра детектируется спектрометром с матричным детектором (обычно, ПЗС-камерой) [51]. Рассматриваемая система ОКТ в фурье-области обеспечивает продольное разрешение ~12 мкм и поперечное разрешение ~15 мкм. Отношение сигнал/шум для нее равно 120 дБ. Работа ОКТ-системы контролируется автоматически с помощью компьютера. Проводится 2000 сканирований в секунду. Программное обеспечение сбора данных создано в пакете LabVIEW 7.2. В каждом эксперименте регистрировались двумерные ОКТ-изображения, сохраняемые в памяти компьютера для дальнейшей обработки.

Эксперименты *in vitro* были проведены с NL, LBG и LSCC тканями человека. В общей сложности 24 образца хирургически удаленных тканей легких человека были получены от пациентов, которые дали согласие на соответствующее исследование в Первом госпитале при университете Сунь Ят-Сена. Образцы были разделены на три группы в соответствии с гистологическим диагнозом: NL ткань (8 образцов), LBG ткань (8 образцов) и LSCC ткань (8 образцов). После резекции каждый срез удаленной ткани как можно скорее помещался на хранение в 0.9%-ный раствор хлорида натрия, а затем на лед и далее транспортировался в лабораторию для проведения измерений. Образцы хранились при температуре –70 °С до измерений *in vitro*. Для ОКТ-измерений каждая ткань разрезалась на куски размером примерно 2.5×2.5 см и помещалась в физиологический солевой раствор.

Глицерин был закуплен на фабрике химических реагентов Тяньжинь Дамао (Тяньжинь, Китай). Для исследований использовались 25%-ный и 50%-ный растворы глицерина в дистиллированной воде. Они наносились на поверхности образцов каждой из трех типов легочной ткани. ОКТ-изображения для каждого образца непрерывно регистрировались в течение 120 мин. Непосредственно перед ОКТ-экспериментами ткани выдерживались при комнатной температуре в течение 30 мин. Чтобы избежать обезвоживания, легочные срезы поддерживались влажными с помощью фосфатного буферного солевого раствора, и оптический зонд никогда не был в контакте с образцом в процессе сканирования. Положение пробного пучка на сканируемой ткани контролировалось с помощью юстировочного пучка видимого света. Для записи базового уровня перед добавлением раствора глицерина выбранная область образцов визуализировалась в течение 8–10 мин, а затем на поверхности образцов легочных тканей на 15 мин наносился раствор глицерина. Растворы удалялись до ОКТ-визуализации. Каждые 30 мин во время измерения раствор глицерина снова наносился

на ткань на 5 мин. ОКТ-изображения непрерывно регистрировались в течение  $\sim 2$  ч. На протяжении всего эксперимента поддерживалась комнатная температура  $22^\circ\text{C}$ . Никакие ткани не использовались более чем в одном эксперименте.

Замораживание, конечно, вызывает изменения структуры тканей. В зависимости от скоростей охлаждения или оттаивания и конечной температуры замораживания может происходить образование как внеклеточного, так и внутриклеточного льда. Образование внеклеточного льда может вызвать обезвоживание клеток в результате изменений концентрации раствора клеточных компонентов. Это может приводить к тому, что белки теряют свою третичную и четвертичную структуры, вызывая денатурацию ткани. Образование внутриклеточного льда может вызывать механические повреждения клеточных стенок [52]. Воздействия криоконсервации на оптические свойства аорты человека были изучены авторами [53]. Их результаты говорят о том, что замораживание приводит к существенному уменьшению коэффициента поглощения в диапазоне длин волн  $300\text{--}800$  нм. Наше исследование позволяет сравнить глубины проникновения света в оттаявшие легочные ткани различного типа с помощью ОКТ *in vitro*.

Для получения ОКТ-сигналов ОКТ-изображения этих образцов легочных тканей обрабатывались с помощью оригинальной программы, созданной в пакете MATLAB, а затем количественные данные как функции глубины получались путем усреднения интенсивности линейного сигнала по поперечной координате области изображения. Глубины проникновения света в NL, LBG, LSCC ткани человека были найдены с использованием аппроксимирующей экспоненциальной кривой, наилучшим образом описывающей усредненные и нормированные ОКТ-сигналы для всех исследованных тканей [54, 55]. Из-за увеличения концентрации глицерина с ростом глубины коэффициент рассеяния света изменяется. Было показано, что изменения оптических свойств биологических тканей во времени индуцированы диффузией глицерина.

### 3. Результаты и их обсуждение

На рис.1,*a* приведена зависимость от времени глубины проникновения света, зарегистрированная для NL ткани человека с использованием 25%-ного раствора глицерина, а на рис.2,*a* – аналогичная зависимость, полученная с использованием 50%-ного раствора. Характер изменения глубины проникновения света в NL ткань при диффузии 25%-ного раствора глицерина аналогичен наблюдаемому при диффузии 50%-ного раствора. Из рис.1,*a* и 2,*a* видно, что глубины проникновения света в NL ткань в интервале времени  $0\text{--}10$  мин почти постоянны. Перед нанесением на ткань раствора глицерина в обоих случаях средние глубины проникновения составляют  $\sim 0.68$  мм. Глубина проникновения света в NL ткань в интервале времени  $10\text{--}72$  мин после нанесения на нее 25%-ного раствора глицерина постепенно растет, достигая максимального значения  $\sim 0.82$  мм, а затем постепенно уменьшается до  $\sim 0.74$  мм на 120-й минуте. Точно так же глубина проникновения света в NL ткань при использовании 50%-ного раствора глицерина в интервале времени  $10\text{--}108$  мин постепенно растет, достигая максимального значения  $\sim 0.88$  мм, а затем постепенно уменьшается до  $\sim 0.86$  мм на 120-й минуте.

На рис.1,*b* и 2,*b* представлены зависимости от времени глубин проникновения света в LBG ткань человека после нанесения на нее 25%-ного и 50%-ного растворов глицерина соответственно, а на рис.1,*в* и 2,*в* – аналогичные зависимости для LSCC ткани. Эти зависимости схожи с соответствующими зависимостями на рис.1,*a* и 2,*a*.

На рис.1,*b* и 2,*b* средняя глубина проникновения света в LBG ткань перед нанесением на нее растворов глицерина составляет  $\sim 0.59$  мм, причем максимальная глубина проникновения после нанесения 25%-ного раствора глицерина равна примерно 0.75 мм (на 69-й минуте), а после нанесения 50%-ного раствора – примерно 0.79 мм (на 84-й минуте).

Из рис.1,*в* и 2,*в* видно, что средняя глубина проникновения света в LSCC ткань перед нанесением на нее растворов глицерина составляет  $\sim 0.42$  мм, при этом максимальная глубина проникновения после нанесения 25%-ного раствора глицерина равна примерно 0.50 мм (на 56-й минуте), а после нанесения 50%-ного раствора – примерно 0.52 мм (на 43-й минуте).

Максимальная глубина проникновения света указывала на устранение рассогласования показателей преломления в NL, LBG и LSCC тканях. Это позволило сделать вывод о том, что диффузия глицерина прекратилась либо достигла равновесного состояния. Последующее уменьшение глубины проникновения света, наблюдаемое для всех исследуемых тканей, может быть результатом обратного процесса в ткани, при котором вода возвращается во внутреннюю часть ткани [33].

Экспериментальные результаты показали, что в NL, LBG и LSCC тканях транспорт молекул глицерина при более низкой его концентрации (25%) быстрее, чем при более высокой (50%), а глубины проникновения света в первом случае меньше, чем во втором. Различия в скорости диффузии глицерина с различной концентрацией в NL, LBG и LSCC тканях связаны с тем, что раствор глицерина с более высокой концентрацией имеет большую вязкость, чем раствор с более низкой концентрацией [7]. Однако различия в максимальных глубинах проникновения света при высокой (50%) и низкой (25%) концентрациях глицерина для NL, LBG и LSCC тканей составили всего 8.8%, 6.8% и 4.7% соответственно. Эти различия связаны с различиями в показателях преломления растворов.

Сильно рассеивающая ткань человека ограничивает глубину проникновения в нее света ближнего ИК диапазона. Однако основной причиной рассеяния в тканях и клеточных структурах является рассогласование показателей преломления митохондрии, цитоплазмы, клеточной мембраны, внеклеточной среды и ее компонентов, таких как волокна коллагена и эластина [18]. Мутность рассеивающей физической системы может быть значительно снижена за счет использования иммерсии – согласования показателей преломления рассеивателей и фонового материала путем пропитки его агентом с более высоким показателем преломления. Согласование показателей преломления компонентов сильно рассеивающей ткани существенно влияет на ее коэффициенты пропускания и отражения, а также на поляризацию и когерентность рассеянного света [56].

Полученные результаты показывают также, что увеличение локальной объемной концентрации глицерина приводит к увеличению глубин проникновения света в NL, LBG и LSCC ткани в процессе диффузии, однако инкременты этого увеличения заметно различаются. Из рис.1 и 2

видно, что до нанесения раствора глицерина глубина проникновения света в NL ткань была в 1.15 раза больше аналогичной величины для LBG ткани, которая, в свою очередь, превышала в 1.41 раз соответствующую величину для LSCC ткани. После нанесения 25%-ного раствора глицерина максимальные инкременты глубин проникновения света в NL, LBG и LSCC ткани изменились в 1.25, 1.27 и 1.19 раза соответственно по сравнению с их значениями до нанесения раствора. А после нанесения 50%-ного раствора глицерина максимальные инкременты глубин проникновения света в NL, LBG и LSCC ткани изменились в 1.29, 1.34 и 1.24 раза соответственно по сравнению с их значениями до нанесения раствора. Таким образом, гиперосмотические агенты могут применяться

для увеличения достижимых глубин проникновения при использовании оптических методов визуализации, включая ОКТ. Наши дальнейшие исследования будут направлены на более точные измерения изменений оптических свойств легочных тканей человека за счет применения оптически просветляющих веществ.

#### 4. Выводы

Мы продемонстрировали, что применение химического агента (глицерина) может значительно увеличить глубины проникновения света в NL, LBG и LSCC ткани. Полученные результаты показали, что в этих тканях транспорт молекул глицерина при более низкой концентрации

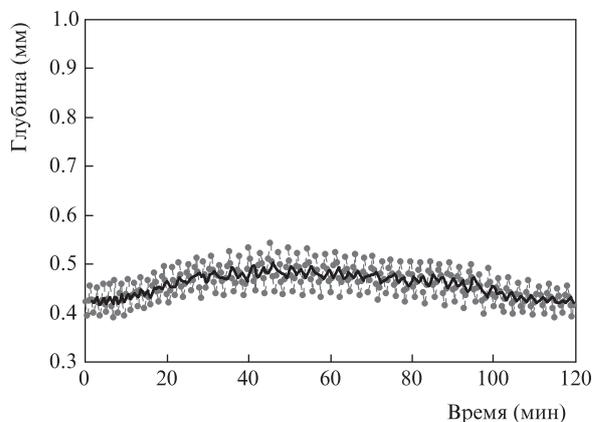
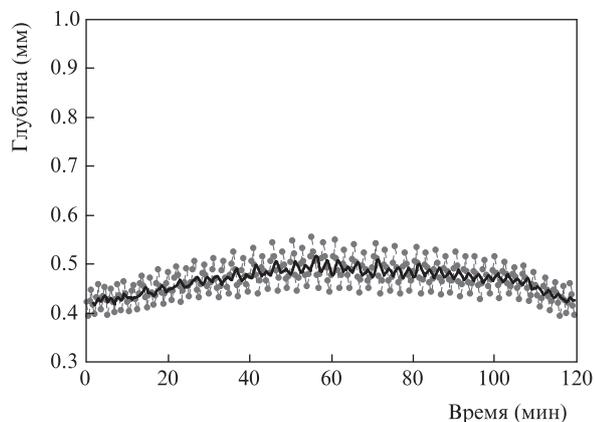
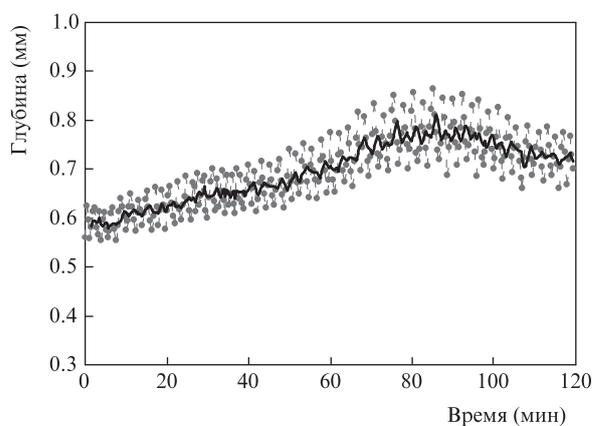
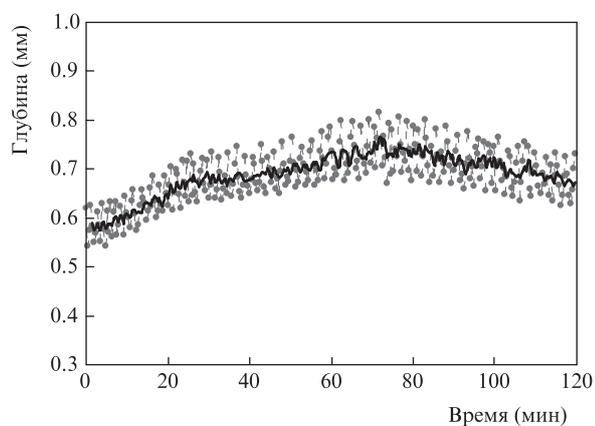
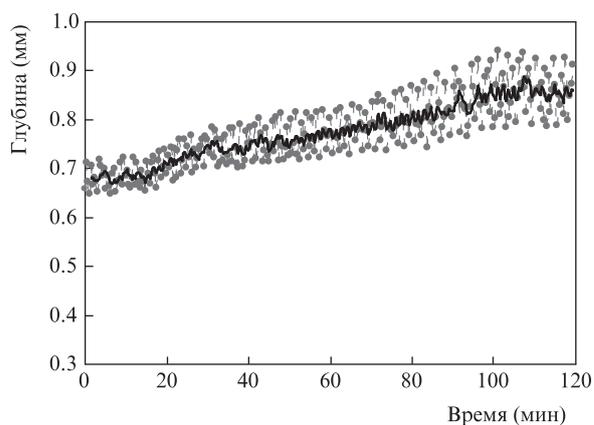
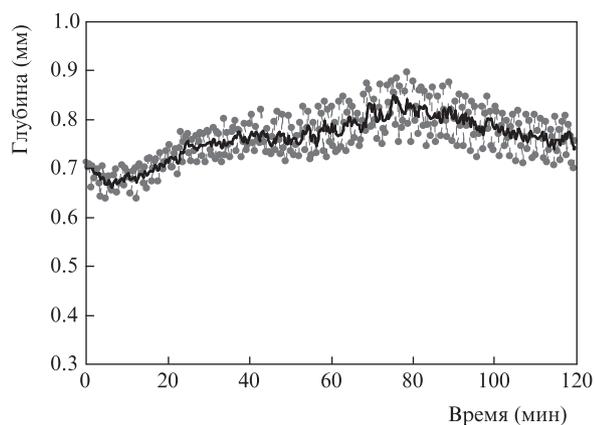


Рис.1. Зависимости от времени глубины проникновения света (по уровню  $1/e$ ) в NL (а), LBG (б) и LSCC (в) ткани человека, полученные с использованием 25%-ного раствора глицерина. Сплошные кривые – результат усреднения экспериментальных данных.

Рис.2. Зависимости от времени глубины проникновения света (по уровню  $1/e$ ) в NL (а), LBG (б) и LSCC (в) ткани человека, полученные с использованием 50%-ного раствора глицерина. Сплошные кривые – результат усреднения экспериментальных данных.

глицерина (25%) быстрее, чем при более высокой (50%), а глубины проникновения света в первом случае меньше, чем во втором. Максимальные глубины проникновения света при высокой (50%) и низкой (25%) концентрациях глицерина для NL, LBG и LSCC тканей различались всего на 8.8%, 6.8% и 4.7% соответственно. Наши эксперименты показывают, что увеличение локальной объемной концентрации глицерина в процессе диффузии приводит к увеличению глубин проникновения света в эти ткани, однако инкременты такого увеличения заметно различаются. Это потенциально могло бы быть диагностировано путем сравнения глубин проникновения света в указанные ткани для нескольких терапевтических или диагностических агентов. Таким образом, динамический мониторинг и точная оценка скоростей процессов диффузии в NL, LBG и LSCC тканях с помощью ОКТ могла бы обеспечить по-настоящему эффективный способ оценки жизнеспособности тканей.

Настоящая работа была поддержана Национальным фондом естественных наук Китая (гранты № 30940020 и 81171379).

1. Kawada A., Aragane Y., Kameyama H., Sangen Y., Tezuka T. *J. Dermatol. Sci.*, **30**, 129 (2002).
2. Lee S.Y., You C.E., Park M.Y. *Lasers Surg. Med.*, **39**, 180 (2007).
3. Donohoe A., Hare N.O., Barnes L. *Ir. J. Med. Sci.*, **171**, 94 (2002).
4. Kwon K., Son T., Lee K.J., Jung B. *Lasers Med. Sci.*, **24**, 605 (2009).
5. Wang R.K., Tuchin V.V. *J. X-Ray Sci. Technol.*, **10**, 167 (2002).
6. Xu X.Q., Zhu Q.H. *Opt. Commun.*, **279**, 223 (2007).
7. Tuchin V.V. *Laser Phys.*, **15**, 1109 (2005).
8. Genina E.A., Bashkatov A.N., Tuchin V.V. *Expert Rev. Med. Devices*, **7**, 825 (2010).
9. Tuchin V.V. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **38**, 2497 (2005).
10. Barer R., Ross K.F.A., Tkaczyk S. *Nature*, **171**, 720 (1953).
11. Barer R., Joseph S. *Q. J. Microsc. Sci.*, **95**, 399 (1954).
12. Фихман Б.А. *Микробиологическая рефрактометрия* (М.: Медицина, 1967).
13. Rol P., Neiderer P., Durr U., Henchoz P.D., Frankhauser F. *Ophthalmic Surg. Lasers*, **3**, 201 (1990).
14. Tuchin V.V. *J. Laser Appl.*, **5**, 43 (1993).
15. Chance B., Liu H., Kitai T., Zhang Y. *Anal. Biochem.*, **227**, 351 (1995).
16. Liu H., Beauvoit B., Kimura M., Chance B. *J. Biomed. Opt.*, **1**, 200 (1996).
17. Tuchin V., Maksimova I., Zimnyakov D., Kon I., Mavlutov A., Mishin A. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **2925**, 118 (1996).
18. Tuchin V.V., Maksimova I.L., Zimnyakov D.A., Kon I.L., Mavlutov A.H., Mishin A.A. *J. Biomed. Opt.*, **2**, 401 (1997).
19. Tuchin V.V., Culver J., Cheung C., Tatarikova S.A., Della Vecchia M.A., Zimnyakov D., Chaussky A., Yodh A.G., Chance B. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **3598**, 111 (1999).
20. Bashkatov A.N., Tuchin V.V., Genina E.A., Sinichkin Yu.P., Lakodina N.A., Kochubey V.I. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **3591**, 311 (1999).
21. Vargas G., Chan E.K., Barton J.K., Rylander H.G. III, Welch A.J. *Laser. Surg. Med.*, **24**, 133 (1999).
22. Tuchin V.V. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **4001**, 30 (2000).
23. Tuchin V.V. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **4224**, 351 (2000).
24. Jemal A., Center M.M., Desantis C., Ward E.M. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **19**, 1893 (2010).
25. Ramalingam S.S., Owonikoko T.K., Khuri F.R. *CA Cancer J. Clin.*, **61**, 91 (2011).
26. Hurria A., Kris M.G. *CA Cancer J. Clin.*, **53**, 325 (2003).
27. Jemal A., Siegel R., Xu J., Ward E. *CA Cancer J. Clin.*, **60**, 277 (2010).
28. Owonikoko T.K., Ragin C.C., Belani C.P., Oton A.B., Gooding W.E., Taioli E., Ramalingam S.S. *J. Clin. Oncol.*, **25**, 5570 (2007).
29. Jiang J., Boese M., Turner P., Wang R.K. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 021105 (2008).
30. Zhu D., Zhang J., Cui H., Mao Z.Z., Li P.C., Luo Q.M. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 021106 (2008).
31. McNichols R.J., Fox M.A., Gowda A., Tuya S., Bell B., Motamed M. *Lasers Surg. Med.*, **36**, 289 (2005).
32. Ghosn M.G., Tuchin V.V., Larin K.V. *Opt. Lett.*, **31**, 2314 (2006).
33. Ghosn M.G., Sudheendran N., Wendt M., Glasser A., Tuchin V.V., Larin K.V. *J. Biophotonics*, **3**, 25 (2010).
34. Zimmerley M., McClure R.A., Choi B., Potma E.O. *Appl. Opt.*, **48**, D79 (2009).
35. He Y., Wang R.K. *J. Biomed. Opt.*, **9**, 200 (2004).
36. Otter W.K., Notman R., Anwar J., Noro M.G., Briels W.J. *Chem. Phys. Lipids*, **154**, S2 (2008).
37. Ghosn M.G., Mashiattulla M., Syed S.H., Mohamed M.A., Larin K.V., Morrisett J.D. *J. Lipid Res.*, **52**, 1429 (2011).
38. Goldberg B.B. *Clin. Diagn. Ultrasound*, **28**, 35 (1993).
39. Uematsu H., Maeda M., Sadato N., Matsuda T., Ishimori Y., Koshimoto Y., Yamada H., Kimura H., Kawamura Y., Hayashi N., Yonekura Y., Ishii Y. *Radiology*, **214**, 912 (2000).
40. Ripoll J., Meyer H., Garofalakis A. *Opt. Mater.*, **31**, 1082 (2008).
41. Ларин К.В., Тучин В.В. *Квантовая электроника*, **38**, 551 (2008).
42. Ghosn M.G., Carbajal E.F., Befrui N.A., Tuchin V.V., Larin K.V. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 021110 (2008).
43. Ghosn M.G., Leba M., Vijayananda A., Rezaee P., Morrisett J.D., Larin K.V. *J. Biophotonics*, **2**, 573 (2009).
44. Ghosn M.G., Tuchin V.V., Larin K.V. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **48**, 2726 (2007).
45. Ghosn M.G., Carbajal E.F., Befrui N.A., Tellez A., Granada J.F., Larin K.V. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 010505 (2008).
46. Ghosn M.G., Syed S.H., Befrui N.A., Leba M., Vijayananda A., Sudheendran N., Larin K.V. *Laser Phys.*, **19**, 1272 (2009).
47. Guo X., Guo Z.Y., Wei H.J., Yang H.Q., He Y.H., Xie S.S., Wu G.Y., Deng X.Y., Zhao Q.L., Li L.Q. *Photochem. Photobiol.*, **87**, 734 (2011).
48. Zhao Q.L., Si J.L., Guo Z.Y., Wei H.J., Yang H.Q., Wu G.Y., Xie S.S., Li X.Y., Guo X., Zhong H.Q., Li L.Q. *Laser Phys. Lett.*, **8**, 71 (2011).
49. Schmitt J.M. *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, **5**, 1205 (1999).
50. Guo X., Wu G.Y., Wei H.J., Deng X.Y., Yang H.Q., Ji Y.H., He Y.H., Guo Z.Y., Xie S.S., Zhong H.Q., Zhao Q.L., Zhu Z.G. *Photochem. Photobiol.*, **88**, 311 (2012).
51. Yang Y., Bagnaninchi P.O., Whiteman S.C., Pittius D.G., Elhaj A.J., Spiteri M.A., Wang R.K. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **38**, 2590 (2005).
52. Chan E., Menovsky T., Welch A.J. *Appl. Opt.*, **35**, 4526 (1996).
53. Cilesiz I.F., Welch A.J. *Lasers Surg. Med.*, **14**, 396 (1994).
54. Stumpp O., Chen B., Welch A.J. *J. Biomed. Opt.*, **11**, 041118 (2006).
55. Xu X.Q., Zhu Q.H. *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, **14**, 56 (2008).
56. Tuchin V.V. *J. Biomed. Opt.*, **4**, 106 (1999).