

Оптическая когерентная томография для исследования изменения статических и динамических структур на наномасштабах

С.А.Александров, Х.Субхаш, М.Лихи

Кратко рассмотрен принцип формирования изображений в оптической когерентной фурье-томографии. Описан новый подход для увеличения чувствительности этого метода, основанный на спектральном кодировании пространственной частоты. Информация о пространственной структуре транслируется непосредственно из фурье-области в пространство изображений без потери чувствительности, и распределение пространственных периодов формируется для любого интересующего нас объема внутри трехмерного объекта с чувствительностью к структурным изменениям на наномасштабах. Показана возможность применения подхода для изучения медико-биологических объектов на примере исследования структурных изменений внутри передней части глаза крысы.

Ключевые слова: биомедицинская оптика, оптическая когерентная томография, оптическая когерентная фурье-томография, наномасштаб.

1. Введение

Большинство фундаментальных биологических процессов в живых тканях, включая развитие раковых заболеваний, начинаются с изменений в структуре на масштабе в несколько нанометров (наномасштабе). В связи с этим большое внимание уделяется разработке методов, позволяющих улучшить разрешение и чувствительность современных приборов для получения изображений. Фундаментальный предел разрешения был недавно преодолен, и несколько методов для получения суперразрешения реализованы на практике [1–6]. Однако почти все эти методы требуют применения специальных маркеров, позволяющих формировать только двумерные изображения и не приспособлены для исследования живых тканей *in vivo*. В то же время становится все более очевидным, что двумерное исследование биологических структур зачастую не отражает реальную ситуацию в трехмерных объектах. Оптический когерентный томограф, оптический аналог ультразвуковой аппаратуры, дает возможность бесконтактного формирования трехмерного изображения внутренней структуры объекта [7] и находит все большее применение для получения изображений медико-биологических объектов и их диагностики [8–10], но разрешение и чувствительность к изменениям структуры для большинства томографов не превышает 10 мкм; лишь для некоторых систем разрешение достигает 1 мкм.

Использовались различные подходы для повышения эффективности оптических методов получения изображений, включая оптическую томографию [11, 12], методы исследования микроструктур, размеры которых меньше дифракционного предела разрешения оптической системы [13–16], и новые методы оптической когерентной томографии (ОКТ) [17]. Оптическая спектроскопия, осно-

ванная на анализе рассеивающихся световых полей, применялась в ОКТ для изучения трехмерной морфологии ядер клеток [17, 18]. Спектральные характеристики объектов были получены из данных ОКТ [19], проводились исследования молекул [20]. Корреляционный метод визуализации системы кровеносных сосудов был недавно разработан в нашей лаборатории [21]. Интерференционный микроскоп с синтезированной апертурой предложен для улучшения разрешения участков изображения вне фокальной плоскости [22, 23]. Продемонстрировано применение фазочувствительной ОКТ для измерения вибраций в слуховых органах [24, 25] и для исследования роговицы глаза [26] с чувствительностью на наномасштабе. Обсуждалась также возможность использования ОКТ для регистрации наноструктурных изменений в слабо рассеивающих средах [27].

Новый подход для исследования внутренней структуры объектов, основанный на спектральном кодировании пространственной частоты (СКПЧ), продемонстрировал возможность получения информации о внутренней структуре рассеивающих объектов для любой интересующей нас области двумерного изображения с чувствительностью к структурным изменениям на наномасштабе [28–30]. Проведен теоретический анализ возможности применения этого подхода для трехмерных изображений [31]. Однако, несмотря на значительный прогресс в развитии методов изучения структуры объектов на микро- и наноуровнях, исследование структуры трехмерных сильно рассеивающих объектов на наноуровне представляет серьезную проблему.

Недавно мы продемонстрировали один из возможных путей решения проблемы – использование варианта ОКТ, чувствительной к пространственным и временным структурным изменениям внутри трехмерных рассеивающих объектов на наномасштабе [32]. В настоящей работе мы представляем расширенную теорию метода, приводим результаты исследований, подтверждающие чувствительность на наномасштабе и показывающие возможность применения ОКТ для изучения структурных изменений в передней части глаза крысы, включая роговицу и ирисовую диафрагму.

S.Alexandrov, H.Subhash, M.Leahy. National University of Ireland, Galway, Ireland; e-mail: sergey.alexandrov@nuigalway.ie

Поступила в редакцию 6 марта 2014 г., после доработки – 7 мая 2014 г.

2. Формирование изображения в ОКТ

Как известно, структура объекта может быть описана трехмерной функцией (которую обычно называют рассеивающим потенциалом)

$$U(\mathbf{r}) = \frac{1}{4\pi} k_0^2 [n^2(\mathbf{r}) - 1] \tag{1}$$

или преобразованием Фурье от рассеивающего потенциала

$$F(\mathbf{K}) = \int U(\mathbf{r}) \exp(-i\mathbf{K}\mathbf{r}) d^3r, \tag{2}$$

где $k_0 = 2\pi/\lambda_0$; n – показатель преломления; \mathbf{K} – вектор рассеяния [33]. В дальней зоне при больших значениях вектора \mathbf{r} имеем

$$\mathbf{K} = \frac{2\pi n}{\lambda_0} (\mathbf{s} - \mathbf{s}_0), \tag{3}$$

где \mathbf{s} и \mathbf{s}_0 – единичные векторы освещающей и рассеянной волн (рис.1,а). В декартовых координатах вектор \mathbf{K} можно представить в виде

$$\mathbf{K} = 2\pi (v_x \mathbf{i} + v_y \mathbf{j} + v_z \mathbf{k}), \tag{4}$$

где v_x , v_y и v_z – пространственные частоты вдоль соответствующих декартовых осей.

В соответствии с приближением Борна скалярной теории рассеяния, если объект освещен плоской монохроматической волной, то комплексная амплитуда рассеянной волны в заданном направлении в дальней зоне и при фиксированной длине волны содержит информацию только об одной фурье-компоненте рассеивающего потенциала (одной пространственной частоте), соответствующей вектору \mathbf{K} . При фиксированном угле освещения конец каждого вектора отвечает точке на сфере с радиусом $R = n/\lambda_0$, которую называют сферой Эвальда. Если для освещения используется широкополосное излучение, то при фиксированном угле освещения (рис.1,а) распределение пространственных частот в дальней зоне может быть представлено в виде набора сфер Эвальда с различными диаметрами. Пример таких сфер при освещении объекта вдоль оси z для $n = 1$ и различных длин волн показан на рис.1,б. Связь пространственных частот и длин волн можно представить в виде

$$v_x = n(\sin\alpha - \sin\theta) \cos\varphi/\lambda, \quad v_y = n(\sin\alpha - \sin\theta) \sin\varphi/\lambda, \tag{5}$$

$$v_z = n(\cos\theta + \cos\alpha)/\lambda, \tag{6}$$

где θ – угол падения; α – угол рассеяния; φ – азимутальный угол (рис.1).

Если измерить комплексные амплитуды всех фурье-компонент для всех возможных длин волн и различных направлений освещения и рассеяния, то можно сформировать трехмерное фурье-преобразование рассеивающего потенциала. После этого рассеивающий потенциал может быть восстановлен с помощью трехмерного обратного преобразования Фурье:

$$U(\mathbf{r}) = \frac{1}{(2\pi)^3} \int F(\mathbf{K}) \exp(-i\mathbf{K}\mathbf{r}) d^3K. \tag{7}$$

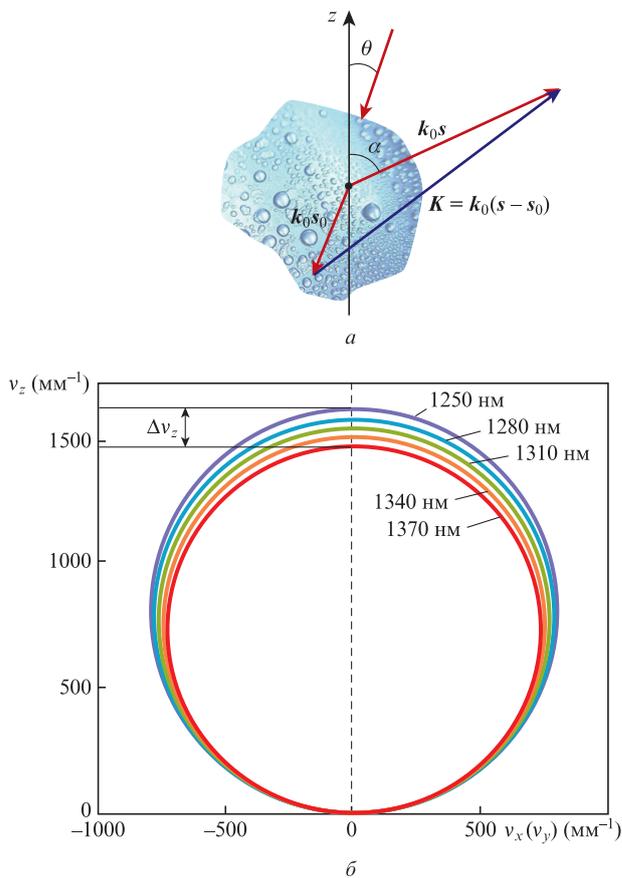


Рис.1. Схема освещения объекта и рассеяния на нем (а) и представление пространственных частот в \mathbf{K} -пространстве в зависимости от длины волны (б).

Однако даже в том случае, если комплексные амплитуды пространственных частот будут измерены для всех возможных направлений освещения и рассеяния, диапазон пространственных частот будет ограничен, рассеивающий потенциал восстановлен в приближении низкочастотной фильтрации и предельное разрешение, которое можно получить, составит около половины длины волны [33].

Из рис.1 и формулы (6) видно, что в пределах небольшого угла рассеяния α имеет место взаимно однозначное соответствие между пространственной частотой v_z и длиной волны. В СКПЧ-подходе это соответствие используется для спектрального кодирования частот v_z и передачи их из фурье-области в каждый пиксель плоскости изображения без потери информации [28–31, 34].

Возможное решение проблемы обратного рассеяния было рассмотрено Вольфом [33, 35, 36]. В ОКТ предлагается одномерное решение этой проблемы, когда фурье-компоненты зарегистрированы только вдоль оси z (вертикальная штриховая линия на рис.1,б). Процесс формирования изображения в фурье-ОКТ основан на адаптации оригинального трехмерного формализма для одномерного случая [37]. Каждая длина волны в зарегистрированном комплексном спектре соответствует одной пространственной частоте v_z . Другими словами, длина волны в данном случае служит «транспортным средством» для передачи пространственной информации через оптическую систему. Зарегистрированный ОКТ-сигнал представляет собой распределение комплексных амплитуд частот v_z и поэтому соответствующий z -профиль трехмерного рас-

сеивающего потенциала (профиль по глубине) может быть восстановлен с помощью одномерного обратного преобразования Фурье.

В ОКТ диапазон регистрируемых пространственных частот может быть вычислен по формуле

$$\Delta v_z = \frac{2n\Delta\lambda}{\lambda_1\lambda_2}, \tag{8}$$

где $\Delta\lambda = \lambda_2 - \lambda_1$ – спектральный диапазон. В процессе выполнения обратного фурье-преобразования для восстановления исходного объекта пространственная информация интегрируется, и в результате разрешение метода и его чувствительность к структурным изменениям значительно ухудшаются. Разрешающая способность по глубине может быть определена с использованием известного выражения [38]:

$$R_{\text{з.ост}} = \frac{2\lambda_c^2 \ln 2}{\pi\Delta\lambda}. \tag{9}$$

Таким образом, разрешающая способность ОКТ и ее чувствительность к структурным изменениям внутри объекта ограничены масштабом около микрометра, и необходимо искать принципиально новые подходы для улучшения чувствительности до наномасштаба.

3. Чувствительная на наномасштабе ОКТ

Традиционный путь для увеличения разрешения и чувствительности состоит, согласно формуле (9), в увеличении спектрального диапазона, но при этом достичь чувствительности на наномасштабе невозможно. Вместо этого мы предложили принципиально новое решение [32]. Как известно, фурье-спектр пространственных частот является информативным и чувствительным к структурным изменениям на наномасштабе [29, 30]. Из СКПЧ-подхода следует, что, имея информацию о \mathbf{K} -пространстве и пространстве изображений, можно исследовать малые структурные изменения в объекте путем построения распределения частот v_z или пространственных периодов H_z для любой интересующей нас области двумерного изображения. Для ОКТ формула (6) может быть переписана в виде

$$v_z = \frac{2n}{\lambda}, \quad H_z = \frac{1}{v_z}. \tag{10}$$

Поскольку длина волны пространственно инвариантна, т. е. не изменяется при преобразовании из \mathbf{K} -пространства в пространство изображений, то, кодируя каждую пространственную частоту (или период) соответствующей длиной волны согласно (10), можно передать пространственную информацию в пространство изображений без потерь, сохраняя чувствительность к структурным изменениям на наномасштабе.

Для практической реализации предложенного метода преобразуем комплексный зарегистрированный спектр в комплексный спектр пространственных частот, используя формулу (10). После этого разобьем полученный комплексный спектр пространственных частот на поддиапазоны, а пространство изображений – на множество объемов, структуру внутри которых мы хотим исследовать. Затем вычислим энергетический вклад I_m от l -го поддиа-

пазона в распределение пространственных периодов H_{zl} для m -го объема:

$$I_m(H_{zl}) = \int_{V_m} |U_{ml}(\mathbf{r})|^2 d\mathbf{r}, \tag{11}$$

где V_m – объем интегрирования; $U_{ml}(\mathbf{r})$ – обратное фурье-преобразование:

$$|U_{ml}(\mathbf{r})| = \frac{1}{(2\pi)^3} \int_{k_l} F(\mathbf{K}) \exp(i2\pi\mathbf{K}\mathbf{r}_m) d\mathbf{K}; \tag{12}$$

\mathbf{r}_m показывает, что вклад l -го поддиапазона пространственных частот рассматривается только для m -го объема в пространстве изображений. Вычисляя вклад $I_m(H_{zl})$ от всех пространственных периодов H_{zl} , мы восстанавливаем z -профиль пространственных периодов для m -го объема внутри объекта. Таким образом, информация о внутренней локальной структуре может быть визуализирована для каждого малого объема внутри трехмерного изображения с чувствительностью к структурным изменениям на наносащтабе.

Согласно соотношениям, связывающим \mathbf{K} -пространство с пространством изображений, размер выборки в \mathbf{K} -пространстве определяет размер восстанавливаемого изображения по глубине. Поэтому ширина каждого поддиапазона пространственных частот определяет размер объема по глубине, а количество поддиапазонов – число точек, используемых для восстановления z -профилей пространственных периодов. Следовательно, здесь имеет место компромисс между пространственным разрешением и точностью восстановления структурной информации, причем оптимальный выбор зависит от конкретной задачи. Наименьший размер восстановленного объема по глубине для заданного диапазона пространственных частот Δv_{zl} может быть найден по формуле

$$\Delta z = \frac{1}{2\Delta v_{zl}}. \tag{13}$$

Наименьший продольный размер рассматриваемого объема определяется разрешением объектива. Под чувствительностью мы понимаем наименьшие изменения в z -профиле пространственного периода, которые можно зарегистрировать. Теоретический предел чувствительности к структурным изменениям может быть рассчитан по формуле

$$\delta H_z = \frac{\delta\lambda}{2n}, \tag{14}$$

где $\delta\lambda$ – точность определения длины волны. Таким образом, если мы знаем длину волны с точностью до 1 нм, то чувствительность к структурным изменениям в воздухе составит ~ 0.5 нм.

Различные параметры, характеризующие структуру и зависящие от применения, могут быть вычислены из восстановленных z -профилей пространственных периодов и представлены как цветные изображения. Например, одним из таких параметров может быть доминантный пространственный период, который соответствует максимальной величине сигнала и непосредственно характеризует размер доминантной локальной структуры.

4. Эксперименты и обсуждение результатов

Для экспериментальной демонстрации возможностей рассматриваемого метода мы использовали обычную спектральную ОКТ (рис.2). Источником света служил широкополосный суперлюминесцентный диод с центральной длиной волны 1300 нм и спектральным диапазоном 83 нм (DenseLight, Сингапур). Спектрометр включал в себя дифракционную решетку (1145 лин./мм) и линейно сканирующую InGaAs-камеру (частота 91 кГц, 1024 пикселя; SU1024LDH2, Goodrich Ltd., США). Гелий-неоновый лазер использовался для настройки системы. Частота кадров при регистрации двумерного ОКТ-изображения (В-моды) была равна 50 Гц. Измеренное разрешение по глубине в воздухе составляло около 12 мкм, а поперечное разрешение – примерно 30 мкм.

Изображения формировались как цветные распределения доминантных пространственных периодов. В большинстве экспериментов размер вокселя был равен 30×30×50 мкм.

Для экспериментальной проверки чувствительности метода к структурным изменениям мы использовали обра-

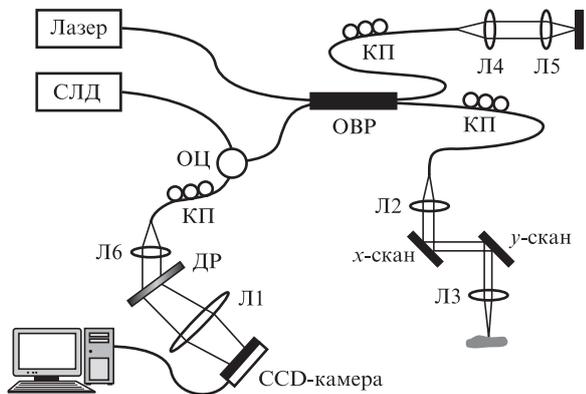


Рис.2. Схема спектрального оптического когерентного томографа для реализации ОКТ, чувствительной на наномасштабе: СЛД – суперлюминесцентный диод; ДР – дифракционная решетка; ОЦ – оптический циркулятор; КП – контроллер поляризации; ОВР – оптический волоконный разветвитель; Л1 – Л6 – линзы.

зец, который состоял из двух слоев агрегированных наносфер, изготовленных из полистирола (рис.3). Каждый слой представлял собой сильно рассеивающую многослойную трехмерную структуру, пространственные периоды которой зависят от размера сфер, показателей преломления окружающей среды и сфер и порядка их расположения. Иными словами, такой образец представлял собой комплексную трехмерную пространственную структуру и мог служить моделью биоткани. Образец был исследован с помощью электронной микроскопии, изображения сфер в двух слоях приведены на рис.3. Измеренные диаметры сфер составляли 614 ± 18 нм и 644 ± 20 нм, поэтому существовала вероятность того, что сферы из различных слоев могли иметь одинаковый диаметр.

На ОКТ-изображении (рис.4,а), представляющем собой сечение образца по глубине, верхний слой содержит сферы со средним размером 614 нм, а нижний слой – со средним размером 644 нм. Размеры сфер значительно меньше предела разрешения используемой ОКТ, поэтому невозможно увидеть их и тем более зарегистрировать различие в структуре слоев. Однако восстановив с помощью развитого нами метода z-профили пространственных периодов структуры для различных областей внутри образца, можно увидеть, что доминантные пространственные периоды для областей в нижнем слое больше, чем для областей верхнего слоя [32]. Вертикальными штриховыми линиями на рис.4,а указаны пространственные периоды, при которых величина сигнала максимальна (доминантные периоды). Увеличение доминантных периодов внутри нижнего слоя говорит о том, что размер доминантной структуры в нем больше, чем внутри верхнего слоя, в соответствии с измеренными с помощью электронной микроскопии распределениями сфер в слоях по размерам. На рис.4,б представлено полученное нами цветное распределение доминантных пространственных периодов структуры образца. Видно, что в большинстве локальных областей в нижней части изображения (нижний слой) цвета смещены в красный диапазон, что отвечает большему размеру доминантной структуры в данных областях, по сравнению с верхней частью изображения (верхний слой). При этом различие размеров доминант-

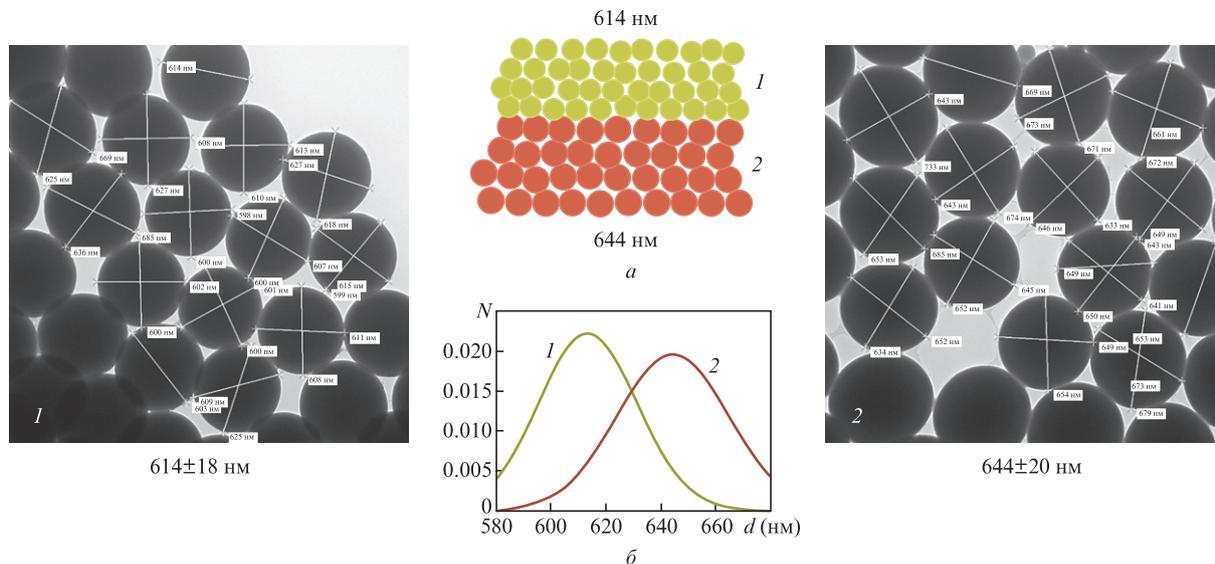


Рис.3. Схема образца с соответствующими фотографиями структуры в двух слоях (а) и распределения сфер в этих слоях по размерам d (б). Изображения и распределения получены с помощью электронной микроскопии.

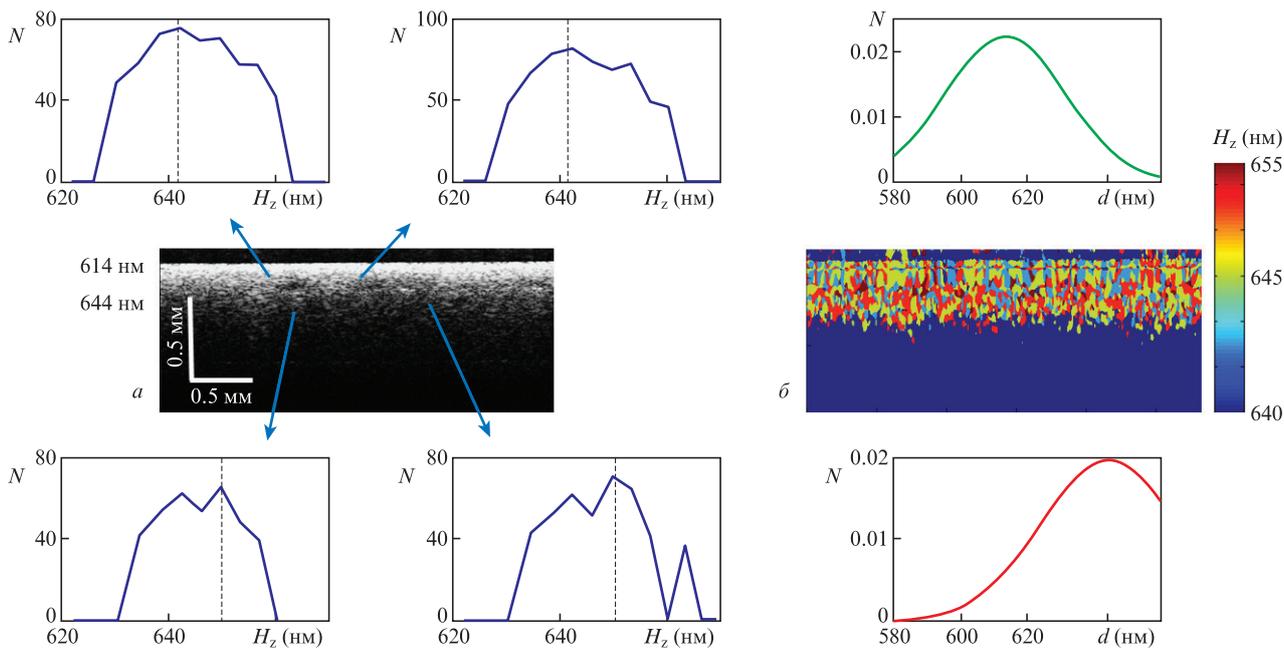


Рис.4. Изображения двухслойного образца: обычное ОКТ-изображение с z -профилями пространственных периодов для двух локальных областей (a) и изображение доминантной структуры с измеренными с помощью электронного микроскопа распределениями сфер в слоях по размерам, полученные с помощью ОКТ, чувствительной на наномасштабе (b). Цветной рис.4 (а также рис.5 и 6) помещен на сайте нашего журнала <http://www.quantum-electron.ru>.

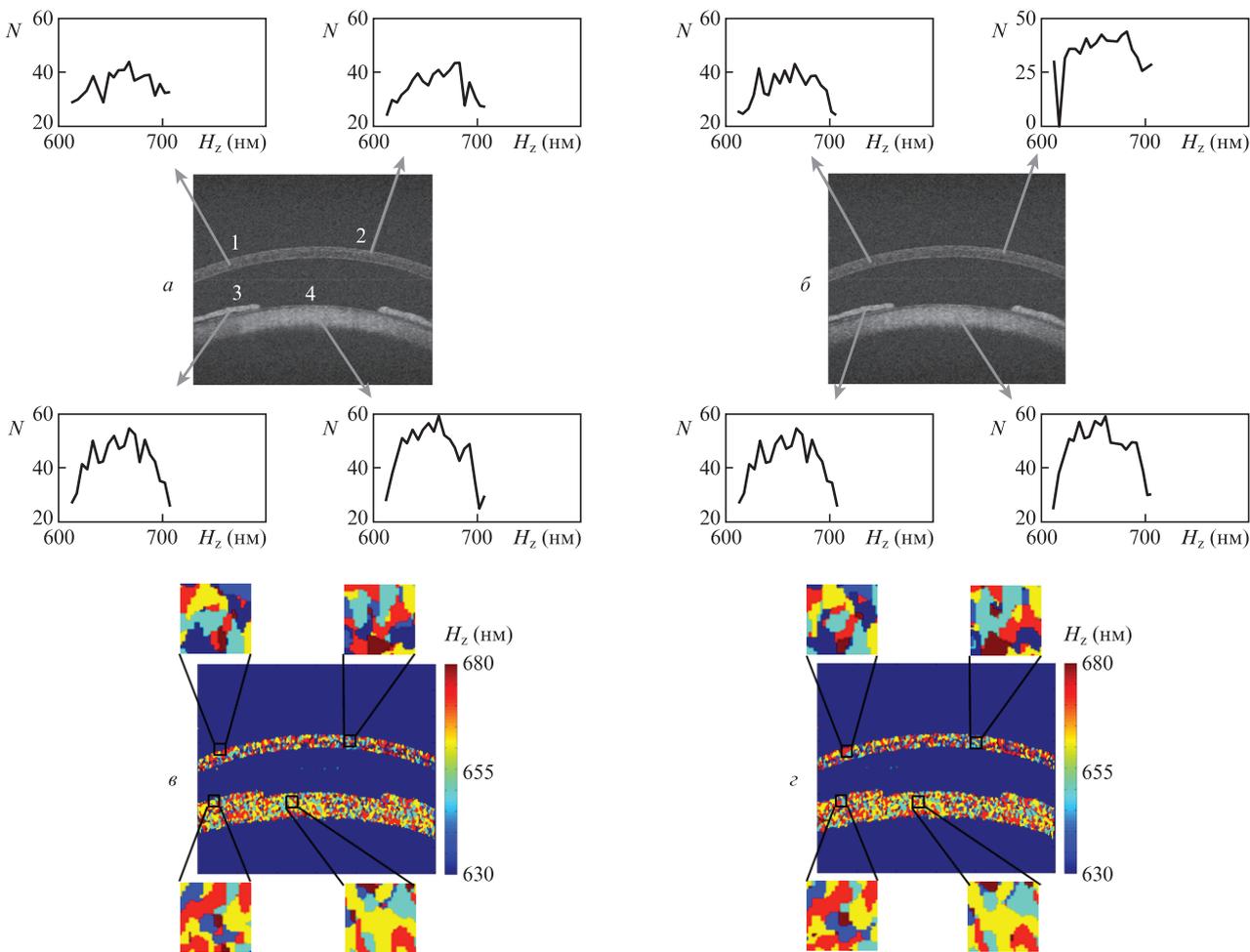


Рис.5. Изображения передней части глаза крысы: ОКТ-изображения с z -профилями пространственных периодов для двух локальных областей (a, b) и ОКТ-изображения, полученные нашим методом (v, z). Временной интервал между регистрацией изображений на рис.5, a, v и рис.5, b, z составлял 20 мс.

ных структур в слоях регистрируется вне зависимости от того, какой слой находится сверху [32]. Значит, с помощью развиваемого нами подхода можно зарегистрировать структурные изменения в 30 нм внутри образца, используя только одно изображение (однократное сканирование).

Эта возможность делает очень привлекательным применение данного подхода для исследования структурных изменений во времени. Нами было показано, что структурные изменения в различных областях объекта во времени, меньшие 30 нм, могут быть зарегистрированы с помощью рассматриваемого метода [32]. В настоящей работе мы исследуем возможность его применения для изучения структурных изменений в основных областях передней части глаза крысы, включая роговицу и ирисовую дифрагму. Поскольку роговица является слабо рассеивающим объектом, то возможность получения изображения не была очевидной. Для демонстрации такой возможности была использована крыса Sprague-Dawley (CD, Harlan Laboratories, Великобритания), возраст которой был 8–12 недель. Все процедуры, выполняемые на животных, одобрены Комитетом этики животных (the Animal Ethics Committee) Национального университета Ирландии в Галлуэй и проводились в соответствии с лицензией Департамента здоровья Ирландии и со Стандартом по оперативным процедурам национального центра биомедицинских инженерных наук (Галлуэй, Ирландия) (Standard Operating Procedures of the Animal Facility at the National Centre for Biomedical Engineering Science, Galway, Ireland). После эвтаназии крысы с помощью ингаляции углекислого газа ее глаза были удалены и помещены в пластиковый контейнер, заполненный биологическим раствором (PBS).

Структурные изменения внутри глаза происходили в результате его естественного высыхания и обезвоживания. Временной интервал между регистрацией изображений на рис.5,*a, в* и рис.5,*б, г* был равен 20 мс. Сравнивая обычные ОКТ-изображения (рис.5,*a и б*), невозможно увидеть какие-то изменения в структуре в течение этого временного интервала. Однако, применив разрабатываемый подход и построив *z*-профили пространственных периодов внутренней структуры для различных локальных областей внутри роговицы и диафрагмы, становится возможным визуализировать структурные изменения. Сравнивая *z*-профили пространственных периодов можно сделать вывод, что изменения в структуре внутри диафрагмы (область 3) незначительны, в то время как структура роговицы (области 1 и 2) претерпевает существенные изменения. Такие структурные изменения ясно видны на рис.5,*в, г* и на увеличенных изображениях участков 2 и 3 на рис.6. Все цветные области на рис.6,*a и б* имеют примерно одинаковые размер и форму, в то время как цветные области на рис.6,*в и г* существенно различаются по форме и размеру. Например, темно-красная область в центре изображения на рис.6,*a* остается и на рис.6,*б*, только слегка увеличившись в размере. При этом голубая область в центре рис.6,*в* существенно изменяет размер и форму на рис.6,*г*. Даже усредненные по трем цветовым каналам (R, G, B) коэффициенты корреляции между изображениями на рис.6,*a, б* и рис.6,*в, г* существенно различаются и соответственно равны 0.8 и 0.6. Из полученных данных следует, что процесс обезвоживания в первую очередь вызывает изменения в структуре роговицы.

Результаты проведенных экспериментов показали, что развиваемый нами подход может успешно применяться

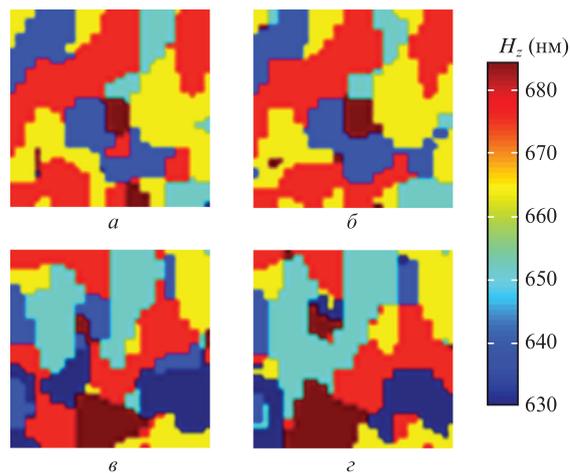


Рис.6. Увеличенные изображения (см. рис.5,*в, г*) передней части глаза крысы для области 3 внутри диафрагмы (*a, б*) и области 2 внутри роговицы (*в, г*). Временной интервал между регистрацией изображений на рис.6,*a, в* и рис.6,*б, г* составлял 20 мс.

для исследования малых структурных изменений внутри передней части глаза крысы. Это открывает хорошие перспективы для его применения при исследовании структурных изменений в результате различных воздействий, например введения стволовых клеток в роговицу.

5. Заключение

Нами развит новый подход, который позволяет значительно улучшить чувствительность ОКТ к структурным изменениям внутри сильно рассеивающих сред. Представлена расширенная теория и показано, что, применяя спектральное кодирование пространственной частоты по глубине объекта и транслируя пространственную информацию непосредственно из фурье-области в пространство изображений без потери чувствительности, можно регистрировать наноструктурные изменения. Возможность применения подхода для изучения медико-биологических объектов продемонстрирована на примере исследования структурных изменений внутри передней части глаза крысы в процессе его обезвоживания. Проведенные эксперименты показали, что данный подход может быть использован для исследования слабо рассеивающих объектов (роговицы). Это открывает хорошие перспективы для дальнейшего его применения при изучении процессов, связанных со структурными изменениями внутри глаза, например процессов регенерации в результате введения стволовых клеток.

1. Cotte Y. et al. *Nat. Photonics*, **7**, 113 (2013).
2. Wang Z. et al. *Nat. Commun.*, **2**, 1 (2011); <http://www.nature.com/ncomms/journal/v2/n3/full/ncomms1211.html>.
3. Gustafsson M.G. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **102**, 13081 (2005).
4. Hell S.W. *Nat. Biotechnol.*, **21**, 1347 (2003).
5. Sheppard C. *Micron*, **38**, 165 (2007).
6. Sentenac A., Chaumet P.C., Belkebir K. *Phys. Rev. Lett.*, **97**, 243901 (2006).
7. Huang D. et al. *Science*, **254**, 1178 (1991).
8. Adler D.C. et al. *Nat. Photonics*, **1**, 709 (2007).
9. Liu L.B. et al. *Nat. Med.*, **17**, 1010 (2011).
10. Vakoc B.J. et al. *Nat. Med.*, **15**, 1219 (2009).
11. Sharpe J. et al. *Science*, **296**, 541 (2002).
12. Maire G. et al. *Phys. Rev. Lett.*, **102**, 213905 (2009).
13. Alexandrov S.A., Hillman T.R., Gutzler T., Sampson D.D. *Phys. Rev. Lett.*, **97**, 168102 (2006).

14. Alexandrov S.A., Hillman T.R., Sampson D.D. *Opt. Lett.*, **30**, 3305 (2005).
15. Hillman T.R., Gutzler T., Alexandrov S.A., Sampson D.D. *Opt. Express*, **17**, 7873 (2009).
16. Mico V., Zalevsky Z., Ferreira C., Garcia J. *Opt. Express*, **16**, 19260 (2008).
17. Graf R.N., Wax A. *Opt. Express*, **13**, 4693 (2005).
18. Pyhtila J.W., Wax A. *Opt. Express*, **12**, 6178 (2004).
19. Robles F., Graf R.N., Wax A. *Opt. Express*, **17**, 6799 (2009).
20. Robles F.E., Wilson C., Grant G., Wax A. *Nat. Photonics*, **5**, 744 (2011).
21. Enfield J., Jonathan E., Leahy M. *Biomed. Opt. Express*, **2**, 1184 (2011).
22. Ralston T.S., Marks D.L., Carney P.S., Boppart S.A. *Nat. Phys.*, **3**, 129 (2007).
23. Ralston T.S., Adie S.G., Marks D.L., Boppart S.A., Carney P.S. *Opt. Lett.*, **35**, 1683 (2010).
24. Chen F. et al. *Nat. Neurosci.*, **14**, 770 (2011).
25. Subhash H.M. et al. *J. Biomed. Opt.*, **17**, 060505 (2012).
26. Choi W. et al. *Opt. Lett.*, **38**, 338 (2013).
27. Yi J. et al. *Opt. Express*, **21**, 9043 (2013).
28. Alexandrov S.A., Sampson D.D. *J. Opt. A: Pure Appl. Opt.*, **10**, 025304 (2008).
29. Alexandrov S.A., Uttam S., Bista R.K., Zhao C.Q., Liu Y. *Opt. Express*, **20**, 9203 (2012).
30. Alexandrov S.A., Uttam S., Bista R.K., Staton K., Liu Y. *Appl. Phys. Lett.*, **101**, 033702 (2012).
31. Uttam S., Alexandrov S.A., Bista R.K., Liu Y. *Opt. Express*, **21**, 7488 (2013).
32. Alexandrov S., Subhash H.M., Zam A., Leahy M. *Nanoscale*, **6**, 3545 (2014).
33. Born M., Wolf E. *Principles of Optics: Electromagnetic Theory of Propagation, Interference and Diffraction of Light* (Cambridge: Cambridge University Press, 1999).
34. Alexandrov S.A., Uttam S., Bista R.K., Liu Y. *Opt. Lett.*, **36**, 3323 (2011).
35. Wolf E. *Opt. Commun.*, **1**, 153 (1969).
36. Wolf E. *J. Opt. Soc. Am.*, **59**, 482 (1969).
37. Fercher A.F., Hitzenberger C.K., Kamp G., Elzaiat S.Y. *Opt. Commun.*, **117**, 43 (1995).
38. Xi P., Mei K., Bräuler T., Zhou C., Ren Q. *Appl. Opt.*, **50**, 366 (2011).