

# Объемная микроангиография кожи человека *in vivo* с помощью оптической когерентной томографии с перестраиваемым VCSEL-источником\*

Ву Джун Чой, Р.К. Ванг

*Демонстрируется объемная микроангиография кожи человека *in vivo* с использованием высокоскоростной оптической когерентной томографии (ОКТ) с перестраиваемым источником (ПИ) излучения на длине волны 1.3 мкм (ПИ ОКТ). Таким источником служит поверхностно-излучающий лазер с вертикальным резонатором (VCSEL) и перестройкой частоты с помощью микроэлектромеханической системы, преимуществами которого являются большая длина когерентности (свыше 50 мм) и спектральная ширина полосы более 100 нм, что позволяет визуализировать микроструктуры, лежащие на глубине в несколько миллиметров от поверхности кожи. Показано, что микрососудистая сеть кожи может быть выделена из трехмерных ПИ ОКТ-изображений с помощью сверхчувствительной оптической микроангиографии с корреляционной маской, обеспечивающей получение карты кровоснабжения с повышенной контрастностью и чувствительностью к величине капиллярного кровотока. Приведены 3D микроангиограммы здорового пальца человека, на которых четко видна архитектура кожных сосудов в различных дермальных слоях и даже в гиподерме. Эти результаты означают, что ОКТ-микроангиография может служить полезным биомедицинским тестом для клинического определения функции кожных сосудов.*

**Ключевые слова:** кожная микроциркуляция крови, оптическая когерентная томография с перестраиваемым источником, поверхностно-излучающий лазер с вертикальным резонатором, сверхчувствительная оптическая микроангиография, оптическая когерентная томография с корреляционным отображением.

## 1. Введение

Микроциркуляция крови в коже давно привлекает интерес специалистов из-за своей глубокой связи с болезнями человека и диагностической роли при исследовании заболеваний кожи [1–3]. Главная особенность исследования кожной микроциркуляции крови – легкость доступа для зондирования. Обычно кожное кровообращение организовано в виде стратифицированной упорядоченной системы сосудов в пределах нескольких миллиметров от поверхности кожи, в которой диаметр просвета сосуда составляет менее 100 мкм [4]. По этой причине трехмерная визуализация кожных сосудов с микронным разрешением может дать громадные преимущества в исследованиях кожной микроциркуляции крови, а значит, привести к улучшению клинической интерпретации болезней человека. Многие методы визуализации позволяют получать трехмерные изображения сосудистой сети в ткани с высоким разрешением. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ) и микроскопия двухфотонного возбуждения (МДФВ) интенсивно используются как репрезентативные трехмерные микроангиографические методы получения картин сосудистой сети в живой ткани с высоким поперечным разрешением, достигающим нескольких микрометров [5–8]. Общим недостатком обоих

методов является необходимость введения экзогенного контрастного агента для выделения сосудов, что может вызвать побочную реакцию, например тошноту и рвоту [9]. Более того, в сильно рассеивающих средах высокое поперечное разрешение (менее 2 мкм) достигается за счет уменьшения глубины отображения до величины менее 0.5 мм [5–8].

В качестве альтернативного метода трехмерной микроангиографии тканей без контрастного вещества был разработан метод фотоакустической микроскопии (ФАМ) [10]. Этим гибридным методом измеряются ультразвуковые импульсы, возникающие за счет термоупругого эффекта поглощающего свет гемоглобина, содержащегося в эритроцитах, что позволяет получить изображение сосудистых структур *in vivo*. Регистрация ультразвуковой волны позволяет обеспечить визуализацию в кожной ткани на большей глубине – до долей сантиметра. Недавно в методе ФАМ оптического разрешения (ОР ФАМ) поперечное разрешение было улучшено до уровня видимости капилляров [11, 12]. Однако ФАМ-визуализация требует использования водной соединительной среды, находящейся в контакте с образцом и проводящей ультразвуковую волну от образца до преобразователя. Вдобавок к этому время накопления данных для отображения сосудов довольно велико (порядка нескольких минут) [12].

Последним был предложен функциональный вариант оптической когерентной томографии (ОКТ), преимуществами которого является бесконтактная высокоскоростная 3D микроангиография капиллярного ложа тканей *in vivo* [13–20]. В отличие от ФАМ, механизм получения изображения включает в себя использование свойств ОКТ-сигнала, рассеянного назад структурой ткани, содержащей сосуд. Случайный поток эритроцитов через просвет сосуда вызывает временные флуктуации сигнала ОКТ (по ин-

\* Перевод с англ. В.Л.Дербова.

тенсивности или фазе) в данном элементе объема кровотока, в отличие от свободной от кровотока области ткани. Эта спекл-подобная динамика позволяет выделить функциональный кровеносный сосуд на фоне окружающей биоткани. Был предложен ряд алгоритмов выделения сосудов, включая методы, основанные на изменениях интенсивности (например, спекл-вариационная ОКТ (svOCT) [21], ОК-отображения корреляции (cmOCT) [22]), на изменениях фазы (например, ОКТ вариации фазы (pvOCT) [23]), а также на комплексных изменениях сигнала (сверхчувствительная оптическая микроангиография (UHS-OMAG) [24–27]). Их возможности выделять сосуды были успешно продемонстрированы на стандартных Фурье-ОКТ-системах (FD-OCT), где разнообразная информация о микрососудах, включая структуру сосудистой сети, поток крови, скорость кровотока, была исследована в различных тканях, таких как мозг [13–20], кожа [22, 27], глаз [23, 24] и улитка внутреннего уха [28, 29] у здоровых и больных лабораторных животных и человека *in vivo*. Поэтому ясно, что ОКТ-микроангиография обладает большим потенциалом для 3D исследований интактной микроциркуляции крови в коже человека.

Однако большинство примеров визуализации сосудов кожи человека с помощью ОКТ ограничено поверхностной сетью сосудов, расположенной в коже под эпидермисом, что в значительной мере обусловлено деградацией чувствительности на больших глубинах, а также отсутствием надлежащих методов выделения сосудов в мутной среде биоткани. В связи с этим визуализация всех кожных слоев является актуальной задачей. Недавно мы разработали модифицированный алгоритм UHS-OMAG и показали его пригодность для ангиографии кожи с использованием системы ОКТ с перестраиваемым источником (ПИ ОКТ) на основе поверхностно-излучающего лазера с вертикальным резонатором (VCSEL), частота которого перестраивается с помощью микроэлектромеханической системы (МЭМС) [30]. МЭМС-перестраиваемый VCSEL

обладает высокой частотой развертки (несколько сотен килогерц), широким диапазоном перестройки длины волны, превышающим 100 нм, большой длиной когерентности (более 50 мм) и выходной мощностью свыше 25 мВт [31]. Эти качества обеспечивают системе 12-миллиметровый диапазон визуализации с минимальной деградацией сигнала, которая определяется только электроникой накопления данных и образцами. С использованием этой системы и модифицированного алгоритма UHS-OMAG достигнутый контраст в кожной ангиографии был примерно в семь раз больше полученного существующими ангиографическими ОКТ-методами [30].

В настоящей работе рассмотрена объемная визуализация кожного капиллярного кровообращения с помощью модифицированного метода UHS-OMAG, реализованного с лазерным источником VCSEL. Это приложение позволяет визуализировать сеть кожных микрососудов по всей толщине дермы до подкожного слоя.

## 2. Методы

### 2.1. Система ПИ ОКТ с использованием VCSEL

Для получения изображений кожи человека использовалась волоконная ПИ ОКТ-система с МЭМС-перестраиваемым VCSEL SL1310V1-10048 (Thorlabs). На рис.1,а приведена фотография настольной ПИ ОКТ-системы, состоящей из лазерного модуля, модуля изображения, автономного зонда и рабочей станции T5600, (шесть ядер, 2.3 ГГц, 32 ГБ DDR3 RAM, Dell), причем все блоки, кроме зонда, смонтированы на колесной тележке в лаборатории. В лазерном модуле лазерное излучение перестраивалось по длине волны с частотой 100 кГц в окрестности центральной длины волны в спектральной полосе шириной 100 нм, определенной на уровне 10 дБ (рис.1,б). Выходящее из лазерного модуля излучение вводилось в интерферометр Маха–Цендера в модуле изображений и

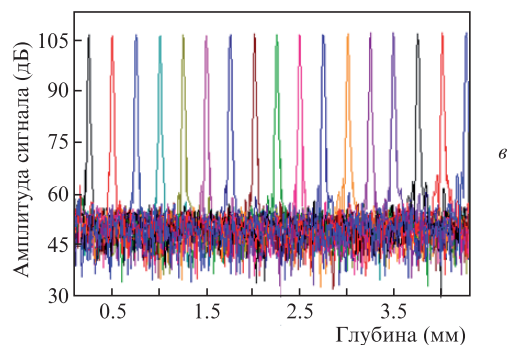
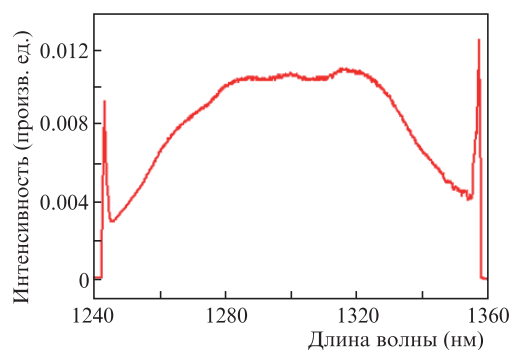
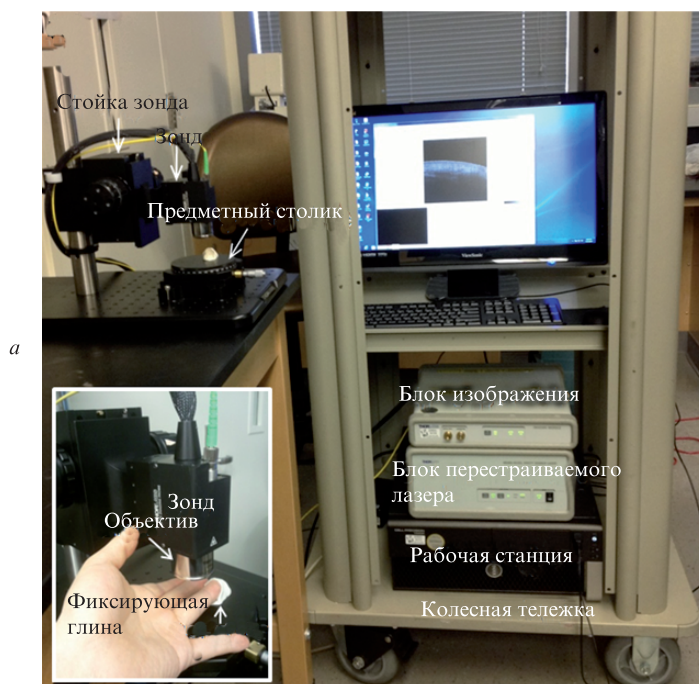


Рис.1. Фотография системы ПИ ОКТ с VCSEL-источником (на вставке показан палец на предметном столике) (а), спектр лазерного источника (б) и измеренная чувствительность сигнала в зависимости от глубины изображения (в).

расщеплялось широкополосным (50:50) волоконным делителем на опорный и предметный пучки. В предметном плече свет по волокну вводился в автономный зонд, коллимировался и направлялся гальванометрическими  $X$ – $Y$ -сканерами на образец. Лазерное излучение фокусировалось пятикратным объективом LSM03 (Thorlabs) с образованием фокального пятна на рабочем расстоянии 25.1 мм в воздухе. Средняя оптическая мощность падающего на кожу излучения составляла 6.0 мВт, что намного ниже установленной Американским национальным институтом стандартов (ANSI, стандарт Z136.1) предельной безопасной мощности ближнего ИК излучения на длине волны 1310 нм [32]. Пучки, приходящие назад из опорного и предметного плеч интерферометра, объединялись в один пучок волоконным разветвителем в модуле изображения. Результирующий сигнал интерферометра детектировался балансным фотодиодом и оцифровывался 12-битным АЦП со скоростью 500 миллионов отсчетов в секунду. Чувствительность системы, измеренная с помощью калиброванного ослабителя в предметном плече, оставалась равной  $\sim 107$  дБ на глубине от 0.5 до 4.5 мм в воздухе (рис.1,б). Измеренные пространственные аксиальное и латеральное разрешения системы составили в воздухе 14 и 22 мкм соответственно.

Во многих предшествующих исследованиях объектом для мониторинга микроциркуляторной реактивности при таких сосудистых заболеваниях, как диабет [33–35], служил палец человека. Поэтому для демонстрации возможностей модифицированной OMAG мы выбрали визуализацию кожной функциональной сети сосудов пальца. В отличие от других конечностей, периферийные части верхних конечностей имеют сравнительно более тонкий бессосудистый слой эпителия, что облегчает ОКТ/OMAG-зондирование нижележащих сосудистых структур.

Для получения изображений палец помещался на столик, который мог перемещаться в плоскости  $X$ – $Y$  так, чтобы исследуемая зона располагалась под объективом, как показано на вставке рис.1,а. Кончик пальца фиксировался с помощью глины, чтобы минимизировать артефакты изображения, вызванные движениями пальца. Для согласования показателей преломления по поверхности кожи в зоне исследования равномерно распределялся гель для УЗИ, после чего фокальная плоскость устанавливалась вблизи поверхности кожи. Двумерное и трехмерное ОКТ-изображения получались с использованием программы графического пользовательского интерфейса на основе 64-битной ОС Windows, которая управляла всеми процессами накопления данных.

## 2.2. Сбор и обработка данных

Для реализации микроангиографии с использованием системы ПИ ОКТ предпочтительна ОКТ-ангиография интенсивности, т. к. при ПИ ОКТ фаза нестабильна. Обычно в этом методе производится вычитание последовательных структурных ОКТ-изображений, полученных в одном месте, что позволяет выделить и отобразить кровотоки [26]. Однако метод подвержен артефактам, возникающим в стационарных тканях из-за рассогласования интенсивностей между пограничными пикселями, что приводит к деградации контраста изображения кровотока. Чтобы устранить эти статические сигналы в ангиограмме, мы использовали модифицированный метод UHS-OMAG, ключевым моментом которого является наложение пре-

образованного в двоичную форму стОСТ-изображения на UHS-OMAG-изображение по интенсивности, что позволяет подавить остаточные статические сигналы на UHS-OMAG-ангиограмме [30]. Протокол получения изображения таков. Производилась трехмерная ОКТ-визуализация с растровым сканированием по  $X$ – $Y$  при помощи гальванометрического сканера. Записывался В-кадр с 512 А-линиями для быстрого В-сканирования и 2560 сечениями для медленного С-сканирования. По завершении этого процесса получался трехмерный массив данных ОКТ (512 ( $X$ )  $\times$  2560 ( $Y$ )  $\times$  4096 ( $Z$ ) элементов объемного изображения), где 4096 – число дискретных пикселей на одной А-линии. Поле зрения трехмерного массива данных составляет 4 мм ( $X$ )  $\times$  2 мм ( $Y$ ). Время сбора данных трехмерной ОКТ равно  $\sim 50$  с.

Амплитуды, образующие трехмерный массив данных ОКТ, вычислялись путем быстрого преобразования Фурье (БПФ) комплексных сигналов полос ОКТ с удалением фона [36]. Чтобы избежать артефактов изображения из-за движения ткани в процессе ОКТ-визуализации, до выделения сосудов к амплитудным данным трехмерной ОКТ применялся метод выставления изображений путем сравнения корреляции между промежуточными В-кадрами [37]. После того как амплитудные данные трехмерной ОКТ были выверены, вычислялись изображения кровотока в сечениях с использованием стандартного алгоритма UHS-OMAG [26, 27] и алгоритма стОСТ [22]. Следует отметить, что мы использовали амплитудные значения вместо комплексных значений, входящих в опубликованную формулу UHS-OMAG [27]. Обычно как UHS-OMAG, так и стОСТ давали одно изображение кровотока по интенсивности из соседних В-кадров, временной промежуток между которыми составлял около 12 мс при заданной скорости В-режима визуализации 80 кадров в секунду. Этот временной промежуток достаточно велик для обнаружения медленных потоков крови [27]. Затем девять изображений кровотока по интенсивности, полученные из десяти соседних В-кадров, усреднялись для увеличения чувствительности сигнала. В результате из 2560 В-кадров ОКТ формировалось всего 256 изображений кровотока по интенсивности для обоих ангиографических методов. Изображения стОСТ создавались в двоичной форме со значениями 0 и 1, и это бинарное стОСТ-изображение использовалось как маска, накладываемая на соответствующее UHS-OMAG-изображение [30]. В результате получалось 256 маскированных послойных UHS-OMAG (mOMAG) изображений, которые образовывали трехмерный ангиографический пакет. Блок-схема постобработки данных представлена на рис.2.

## 3. Результаты экспериментов

### 3.1. Визуализация микрососудистой сети в ткани пальца человека

Объемное полноглубинное изображение кожной сети сосудов было получено в области проксимального межфалангового (ПМФ) (или второго) соединения четвертого пальца здорового добровольца (мужчина 35 лет), показанной на рис.3,а как ограниченный линией участок (4 мм ( $X$ )  $\times$  2 мм ( $Y$ )), где две голубоватые вены видны невооруженным глазом. Пример послойного структурного ОКТ-изображения и соответствующее mOMAG-изображение показаны на рис.3,б и в. ОКТ-изображение (рис.3,б)



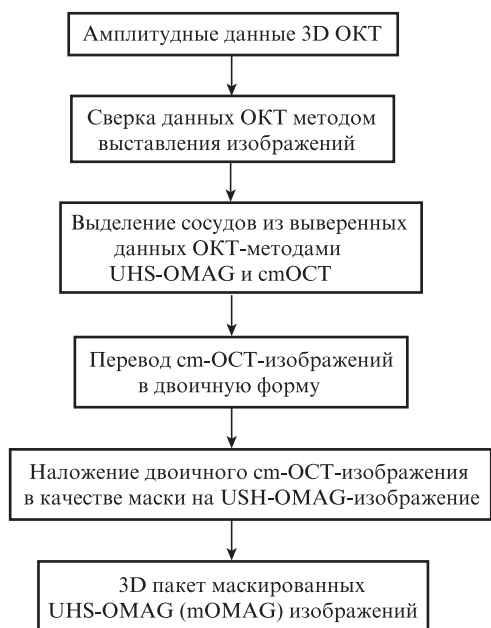


Рис.2. Блок-схема постобработки данных.

выявляет такие типичные анатомические компоненты кожи человека, как эпидермис ( $E =$  роговой слой ( $SC$ ) + шиповатый эпителий ( $SS$ )), дерма ( $D =$  сосочковый слой ( $PD$ ) + сетчатый слой ( $RD$ )) и гиподерма  $HD$ . В гиподерме видны подкожные жиры ( $SFs$ ) с адипоцитами, сгруппированными в глобулы. Кроме того, на переходе между сетчатым слоем и гиподермой наблюдаются две темные, слабо

рассеивающие структуры диаметром более 500 мкм, которые, вероятно, являются подкожными венами ( $SVs$ ) – голубоватыми сосудами, видимыми на фотографии (рис.3,а). Источником слабого рассеяния может быть кластер эритроцитов, быстро движущийся через подкожную вену. На  $mOMAG$ -изображении (рис.3,б) видно множество ярких сигналов, представляющих перфузию крови в коже, однако изображение ткани страдает от артефактов затенения сигналами перфузии при аксиальном сканировании. Совмещение ОКТ-изображения с окрашенным в красный цвет  $mOMAG$ -изображением на рис.3,г позволяет идентифицировать кровеносные сосуды, расположенные в дерме, и подкожные вены в гиподерме. Для проверки наличия подкожных вен, обнаруженных методом ОКТ, мы получили изображение той же ПМФ области на цветном ультразвуковом приборе  $Hi\ Vision\ 5500$  ( $Hitachi$ ) с высокочастотным (14 МГц) ультразвуковым матричным преобразователем. Аксиальное разрешение УЗ изображения составляло приблизительно 110 мкм с учетом скорости распространения акустической волны в мягкой ткани (1540 м/с) [38]. На рис.3,д кровотоки выделены цветом на ультразвуковом В-изображении ПМФ области: два соседних потока крови, соответствующих подкожным венам, видны в синем цвете в области ОКТ-визуализации (в рамке на рис.3,д).

Чтобы исследовать сосудистую сеть, для каждого кожного слоя были получены ангиограммы во фронтальных  $XY$ -проекциях путем выбора максимальной амплитуды вдоль направления  $Z$  в каждом слое трехмерного пакета ангиограмм. На рис.4,а представлено трехмерное тонированное ОКТ-изображение структуры ПМФ области с

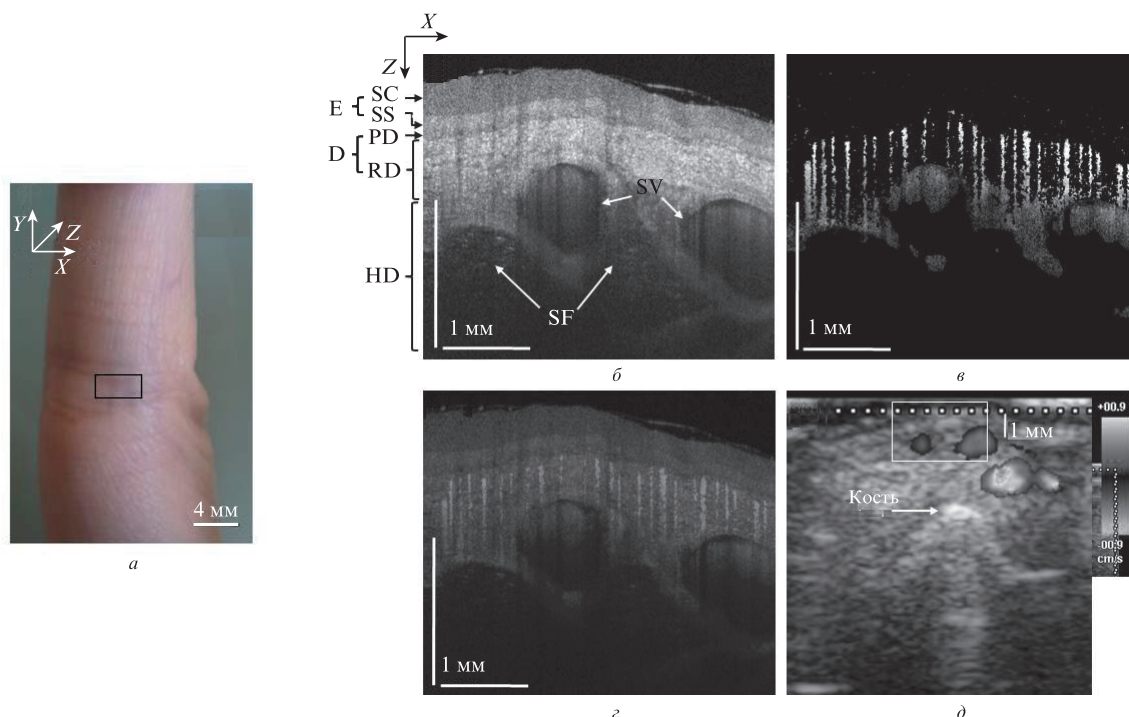


Рис.3. Визуализация in vivo микрососудистой сети ПМФ соединения четвертого пальца здорового добровольца (мужчина 35 лет): а – фотография четвертого пальца левой руки с зоной визуализации в ПМФ области (прямоугольная рамка 4 мм ( $X$ )  $\times$  2 мм ( $Y$ )); б – пример структурного ОКТ-изображение в сечении  $XZ$  ( $E$  – эпидермис,  $SC$  – роговой слой,  $SS$  – шиповатый эпителий,  $D$  – дерма,  $PD$  – сосочковый слой,  $RD$  – сетчатый слой,  $HD$  – гиподерма,  $SF$  – подкожный жир,  $SV$  – подкожная вена); в – соответствующее изображение сечения  $XZ$  кровотока ( $mOMAG$ -изображение); г – структурное изображение ПМФ области с наложением данных  $mOMAG$  (размер изображения 4 мм ( $X$ )  $\times$  2.1 мм ( $Z$ )); д – цветное изображение кровотока на доплеровском УЗИ в В-режиме. Подкожные вены выделены по доплеровскому сигналу (синий цвет) в белой рамке (область ОКТ-визуализации). Цветные изображения рис.3–5 можно видеть на сайте «Квантовой электроники» [www.quantum-electron.ru](http://www.quantum-electron.ru)

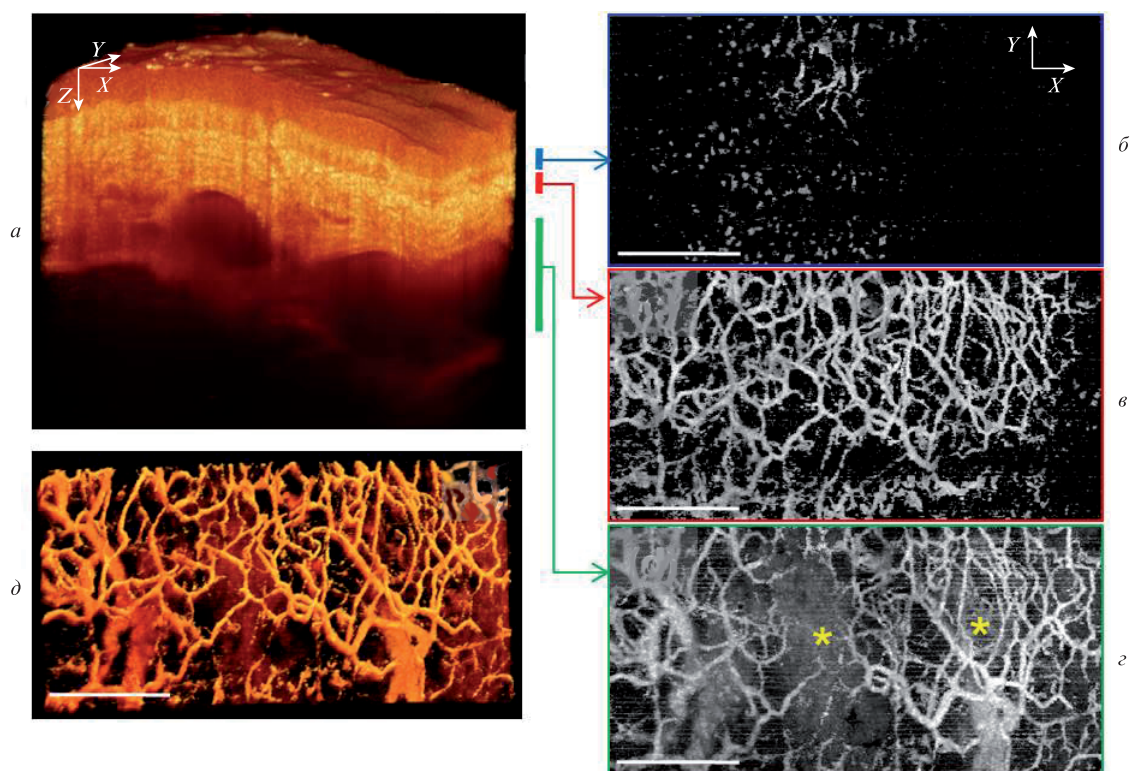


Рис.4. Проекционные изображения кожной сосудистой системы с разрешением по глубине в ПМФ области четвертого пальца руки человека: *a* – трехмерное тонированное изображение ОКТ-структуры в ПМФ области; *б*, *в* и *г* – проекционные ангиограммы на глубинах 250–380 мкм, 384–420 мкм и 636–1380 мкм под поверхностью кожи соответственно; *е* – трехмерное тонированное изображение всех сосудистых структур кожи в ПМФ области. Масштабный отрезок 1 мм.

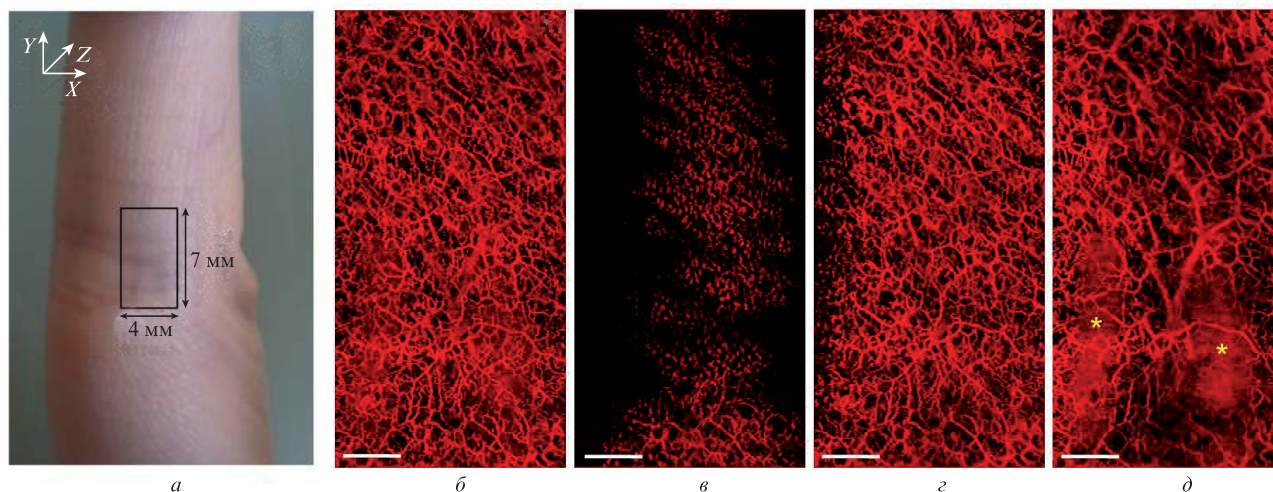


Рис.5. Широкозахватная ангиографическая визуализация ПМФ области четвертого пальца руки. Семь отдельных фронтальных проекционных ангиограмм «сшиты» вместе, чтобы обеспечить поле зрения размером 4 мм ( $X$ )  $\times$  7 мм ( $Y$ ) (*a*). Широкозахватные фронтальные проекционные ангиограммы получены с разных глубин: *б* – вся глубина кожи, *в* – сосочковый слой, *г* – переход между сосочковым и сетчатым слоями, *д* – переход между дермой и подкожными тканями (звездочки указывают на подкожные вены). Масштабный отрезок 1 мм.

тремя цветными отрезками (синий, красный и зеленый), соответствующими трем диапазонам глубин: сосочковый слой дермы, область между сосочковым и сетчатым слоями и переход дерма–подкожный слой (гиподерма) соответственно. Проекционные ангиограммы для каждого диапазона глубин показаны на рис.4,*б–г*. На рис.4,*б* (250–380 мкм от поверхности) ангиограмма обнаруживает капиллярные петли, исходящие из верхнего горизонтального сплетения, доставляющего питательные компоненты к эпидермису [4]. Верхнее горизонтальное сплетение, поддерживающее капиллярные петли дермы,

находится вблизи перехода между сосочковым и сетчатым слоями дермы (384–420 мкм от поверхности) (рис.4,*в*). На рис.4,*г* показано нижнее горизонтальное сплетение вблизи перехода между дермой и подкожным слоем (636–1380 мкм от поверхности), образованное перфорирующими сосудами из нижележащих мышц и подкожных жиров, где диаметр некоторых сосудов, включая подкожные вены (помечены звездочками), превышает сотни микрометров [4]. Эти два горизонтальных сплетения – важные области регуляции кожного капиллярного кровотока, которые играют основную роль в формирова-



нии ответа на патофизиологические расстройства кровообращения [4]. Все кожные микрососудистые сети ПМФ области представлены в виде тонированного трехмерного изображения на рис.4,д.

Кроме того, мы провели широкозахватную ангиографию с большим полем зрения (4 мм (X) × 7 мм (Y)) в ПМФ области (в рамке на рис.5,а). Для этого была получена серия 3D ОКТ-пакетов данных в различных, но частично перекрывающихся зонах поля зрения, а затем семь отдельных 3D ангиографических пакетов из каждого 3D массива данных ОКТ. Они были сведены к фронтальным проекционным ангиограммам и «сшиты» вместе после тщательной подгонки. Рисунки 5,б–д представляют собой кодированные цветом широкозахватные проекционные ангиограммы на различных глубинах. Наблюдаемая четкая сосудистая архитектура каждой области эквивалентна представленной на рис.4, однако более широкий обзор дает полную визуализацию сосудистых структур кожи, что важно для исчерпывающего понимания функционирования микрососудистой системы.

#### 4. Заключение

Таким образом, в работе показано, что mOMAG с использованием ПИ ОКТ является эффективным средством мониторинга кровеносных сосудов кожи человека in vivo. Использование ПИ ОКТ-системы на базе VCSEL-источника, перестраиваемого по длине волны при помощи МЭМС, позволило провести объемную визуализацию всей толщи кожного участка. Более того, использование метода UHS-OMAG с корреляционной маской дало возможность выделить картину микрососудистой сети из 3D набора данных ОКТ и определить ее контуры послойно, с разрешением по глубине от дермы до гиподермы. Реализация широкозахватной ангиографии обеспечила получение исчерпывающей 3D информации о кожной микрососудистой сети. Изображения были получены на нормальном пальце, однако результаты говорят о том, что ОКТ-ангиографический подход может быть полезным клиническим инструментом, обеспечивающим 3D информацию о капиллярном кровообращении в коже, что потенциально может помочь в оценке сосудистых расстройств и повысить эффективность их лечения.

Работа частично поддержана исследовательскими грантами Национального института здравоохранения США (гранты № HL093140, R01EB009682 и R01DC010201). За содержание статьи отвечают только авторы работы, оно не обязательно представляет официальную точку зрения грантодателей.

- Den Uil C. A., Klijn E., Lagrand W.K., Brugts J.J., Ince C., Spronk P.E., Simoons M.L. *Prog. Cardiovasc. Dis.*, **51** (2), 161 (2008).
- Holowatz L.A., Thompson-Torgerson C.S., Kenney W.L. *J. Appl. Physiol.*, **105** (1), 370 (2008).
- Arora S., Smakowski P., Frykberg R.G., Simeone L.R., Freeman R., Logerfo F.W., Veves A. *Diabetes Care*, **21** (8), 1339 (1998).
- Braverman I.M. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.*, **5** (1), 3 (2000).
- Paques M., Tadayoni R., Sercombe R., Laurent P., Genevois O., Gaudric A., Vicaut E. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.*, **44** (11), 4960 (2003).
- McDonald D.M., Choyke P.L. *Nat. Med.*, **9** (6), 713 (2003).
- Barretto R.P.J., Ko T.H., Jung J.C., Wang T., Capps G., Waters A.C., Ziv Y., Attardo A., Recht L., Schnitzer M.J. *Nat. Med.*, **17** (2), 223 (2011).
- Shih A.Y., Driscoll J.D., Drew P.J., Nishimura N., Schaffer C.B., Kleinfeld D. *J. Cerebr. Blood. F. Met.*, **32** (7), 1277 (2012).
- López-Sáez M.P., Ordoqui E., Tornero P., Baeza A., Sainza T., Zubeldia J.M., Baeza M. L. *Ann. Allerg. Asthma Im.*, **81** (5), 428 (1998).
- Zhang H.F., Maslov K., Li M.-L., Stoica G., Wang L.V. *Opt. Express*, **14** (20), 9317 (2006).
- Hu S., Rao B., Maslov K., Wang L.V. *Opt. Lett.*, **35** (1), 1 (2010).
- Rao B., Li L., Maslov K., Wang L.V. *Opt. Lett.*, **35** (10), 1521 (2010).
- Wang R.K., Jacques S.L., Ma Z., Hurst S., Hanson S.R., Gruber A. *Opt. Express*, **15** (7), 4083 (2007).
- Wang R.K., Hurst S. *Opt. Express*, **15** (18), 11402 (2007).
- An L., Wang R.K. *Opt. Express*, **16** (15), 11438 (2008).
- Vakoc B.J., Lanning R.M., Tyrrell J.A., Padera T.P., Bartlett L.A., Stylianopoulos T., Munn L.L., Tearney G.J., Fukumura D., Jain R.K., Bouma B.E. *Nat. Med.*, **15** (10), 1219 (2009).
- Reif R., Wang R.K. *Quant. Imaging Med. Surg.*, **2** (3), 207 (2013); doi: 10.3978/j.issn.2223-4292.2012.08.01.
- Yousefi S., Qin J., Zhi Z., Wang R.K. *Quant. Imaging Med. Surg.*, **3** (1), 5 (2013); doi: 10.3978/j.issn.2223-4292.2013.01.01.
- Wang R.K., An L. *J. Biomed. Opt.*, **16** (5), 050503 (2011).
- Wang R.K., An L. *Opt. Express*, **17** (11), 8926 (2009).
- Mariampillai A., Standish B.A., Moriyama E.H., Khurana M., Munce N.R., Leung M.K.K., Jiang J., Cable A., Wilson B.C., Vitkin I.A., Yang V.X.D. *Opt. Lett.*, **33** (13), 1530 (2008).
- Enfield J., Jonathan E., Leahy M. *Biomed. Opt. Express*, **2** (5), 1184 (2011).
- Kim D.Y., Fingler J., Zawadzki R.J., Park S.S., Morse L.S., Schwartz D.M., Fraser S.E., Werner J.S. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.*, **53** (1), 85 (2012).
- Zhi Z., Chao J.R., Wietecha T., Hudkins K.L., Alpers C.E., Wang R.K. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.*, **55** (2), 1024 (2014).
- Shi L., Qin J., Reif R., Wang R.K. *J. Biomed. Opt.*, **18** (10), 106015 (2013).
- Wang R.K., An L., Francis P., Wilson D. *Opt. Lett.*, **35** (9), 1467 (2010).
- An L., Qin J., Wang R.K. *Opt. Express*, **18** (8), 8220 (2010).
- Reif R., Zhi Z., Dziennis S., Nuttall A.L., Wang R.K. *Quant. Imaging Med. Surg.*, **3** (5), 235 (2013).
- Subhash H.M., Davila V., Sun H., Nguyen-Huynh A.T., Nuttall A.L., Wang R.K. *IEEE Trans. Med. Imaging*, **30** (2), 224 (2011).
- Choi W.J., Reif R., Yousefi S., Wang R.K. *J. Biomed. Opt.*, **19** (3), 036010 (2014).
- [http://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup\\_id=6473](http://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup_id=6473).
- ANSI, Safe Use of Lasers* (New York: Laser Institute of America, 1993).
- Halfoun V.L., Pires M.L., Fernandes T.J., Victor F., Rodrigues K.K., Tavares R. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **61** (3), 155 (2003).
- Cutolo M., Sulli A., Secchi M.E., Paolino S., Pizzorni C. *Rheumatology*, **45** (4), iv43 (2006).
- Ohtsuka T. *Int. J. Dermatol.*, **38** (10), 757 (1999).
- Wang R.K., Ma Z. *Phys. Med. Biol.*, **51** (12), 3231 (2006).
- An L., Wilson D.J., Subhush H.M., Wang R.K. *J. Biomed. Opt.*, **15** (2), 026011 (2010).
- Suetens P., in *Fundamentals of Medical Imaging* (New York: Cambridge Univ. Press, 2009, ch. 6, pp 128–156).