

Лазерная спекл-контрастная визуализация отклика кожного кровотока, индуцированного лазерной коагуляцией*

М.Огами, Р.Кулкарни, Х.Ванг, Р.Рейф, Р.К.Ванг

Рассмотрено применение лазерной спекл-контрастной визуализации (ЛСКВ) – метода быстрого получения изображений, в котором обратно рассеянный свет используется для того, чтобы отличить движущиеся объекты (красные кровяные тельца) от неподвижных объектов (окружающая биоткань) при локализованном повреждении кожи, для получения детальной информации об остром отклике кровотока на окклюзию кровеносного сосуда. Моделью служило ухо мыши, а окклюзия осуществлялась коагуляцией импульсным лазером. Мы обнаружили, что сразу после повреждения находящиеся ниже по течению крови сосуды испытывали недостаток кровотока из-за окклюзии в месте облучения. Относительные изменения потока в ближних коллатеральных и анастомозных сосудах были аппроксимированы по разности интенсивностей в ближайших коллатеральных и анастомозах. Количественно определена также плотность затронутых сосудов, расположенных ниже по течению крови. Показано, что лазерная спекл-контрастная визуализация может быть использована для получения изображений кожной сосудистой сети с высоким разрешением и большой скоростью. Она также делает возможным прямое визуальное наблюдение отклика кровотока на повреждение, что может обеспечить новое понимание механизмов лечения кожных ран.

Ключевые слова: лазерная спекл-контрастная визуализация, лазерная коагуляция, кровоток, кожа.

1. Введение

Кровеносные сосуды играют важную и сложную роль в лечении ран. Например, они участвуют в восстановлении гемостаза и способствуют миграции клеток на стадии воспаления [1]. Более того, для быстрого закрытия раны необходимо, чтобы она снабжалась достаточным количеством кислорода с гемоглобином [2]. Общая картина механизмов, лежащих в основе лечения ран, известна, однако об изменениях кожной микроциркуляции крови вблизи места повреждения мы знаем немного [3]. Еще меньше информации о том, как меняется перфузия в первые секунды после повреждения. Ограниченность знаний о кожной перфузии крови мешает пониманию природы кожных заболеваний, таких как псориаз и кожные проявления диабета, и не дает ответить на вопрос о том, как увеличить длительность действия средств – кремов или лекарственных препаратов – дающих временное облегчение [4]. Наконец, понимание механизма быстрого отклика перфузии на повреждение может помочь исследованиям по интенсификации процесса лечения ран. Для оптимизации изучения микрососудистого отклика на повреждение нужна высокоскоростная система получения изображений с хорошим разрешением. Разрешение современных имиджинговых систем не позволяет уловить мелкую сеть микрососудов, поэтому они нуждаются во введении контрастного агента и/или тратят минуты на сбор данных [5–7].

* Перевод с англ. В.Л.Дербова.

M.Ogami, R.Kulkarni, H.Wang, R.Reif, R.K.Wang. Department of Bioengineering, University of Washington, 3720 15th Ave NE, Seattle, Washington 98195, USA; e-mail: wangrkc@uw.edu

Поступила в редакцию 1 апреля 2014 г., после доработки – 15 июня 2014 г.

Недавно внимание исследователей привлек многообещающий метод лазерной спекл-контрастной визуализации (ЛСКВ), в котором используется случайная интерференционная картина, создаваемая когерентной интерференцией между фотонами, рассеянными от различных составляющих биоткани в обратном направлении, что дает возможность отслеживать движущиеся объекты, такие как красные кровяные тельца внутри сосудов. Разрешение изображения может быть достаточно высоким для визуализации артериол и некоторых капилляров по сравнению с разрешением ультразвукового изображения (УЗИ), что является преимуществом [8]. Кроме того, быстрота, простота, ценовая доступность и неинвазивность системы ЛСКВ делают ее идеальной для повторных исследований *in vivo* [9]. ЛСКВ использовалась для исследования перфузии ожоговых рубцов, мониторинга мозгового кровообращения и визуализации ретинального кровотока [7, 10, 11]. Она применялась также для отображения коагуляции крови в работе [12], где для изучения развития тромба использовались механическая окклюзия и лазерное повреждение. Авторы [12] также отметили, что при большой экспозиции ЛСКВ позволяет получить изображение не только кровеносных, но и лимфатических сосудов [13]. Многомодальная техника получения изображений, сочетающая флуоресцентную микроскопию с ЛСКВ, также служила для визуализации лимфатических и кровеносных сосудов, что затем использовалось при изучении проницаемости кровеносных сосудов [14]. Позже система ЛСКВ применялась для измерения количественных показателей коагуляции по изменению скорости флуктуации интенсивности спеклов, обусловленных тромбом [15]. Чтобы определить, как микрососудистая сеть реагирует на местное повреждение, нужно выбрать модель повреждения, которое будет точно нацелено на заданную артерию без изменения локального окружения. Попытки исследовать изменение кровообращения в ответ на повреждение

предпринимались с использованием различных методов, таких, например, как ручное сжатие сосуда [11]. Однако избыточное давление может привести к его разрыву. Более того, оно способно вызвать побочную окклюзию других сосудов, что может привести к неточным результатам. Другим способом индуцирования повреждений является использование биопсийного перфоратора [16]. Изучалось длительное лечение (в течение нескольких дней) с применением оптической микроангиографии [17–20], однако этот метод связан с постоянным повреждением ткани и не позволяет воздействовать только на один выбранный сосуд. Лазерная коагуляция – методика, в которой коагуляция крови достигается путем многократного воздействия на ткань световых импульсов высокой энергии с частотой следования, определяемой модулятором добротности в наносекундной лазерной системе. Многократность воздействия делает возможным охлаждение сосуда между импульсами, что повышает дозу его облучения и уменьшает повреждения окружающих тканей [21]. Лазерная коагуляция в сочетании с ультразвуковыми методами воздействия ранее использовалась для отслеживания изменений перфузии плаценты при исследовании гемодинамики беременных случаев фетофетального трансфузионного синдрома [22]. Однако разрешение изображения, даваемого ультразвуковой системой, недостаточно для точной визуализации острых изменений после лазерной коагуляции. Лазерная коагуляция использовалась также для наблюдения изменений в роговице глаза свиньи *in vitro* при помощи оптической когерентной стробируемой системы формирования изображений [23]. Но информации о том, как микрососудистая сеть реагирует на лазерную коагуляцию, получено не было. Таким образом, благодаря высокой скорости и сравнительно высокому разрешению лазерная коагуляция в сочетании с лазерной спекл-контрастной визуализацией может дать новую информацию для понимания быстрого отклика микрососудистой системы на локальное повреждение.

Важной составляющей ЛСКВ является обработка данных. Традиционно контраст спеклов вычисляется по формуле [24]

$$K_t(x, y) = \frac{\sigma_t(x, y)}{\langle I(x, y) \rangle}. \quad (1)$$

Здесь K_t – временной контраст на данном пикселе; σ_t – стандартное отклонение интенсивности пикселя за рассматриваемое время; $\langle I(x, y) \rangle$ – средняя интенсивность света. В работе [23] предложен новый метод, усиливающий контраст движения, в котором из отношения интенсивностей пикселя между последовательными кадрами вычисляется стандартное отклонение, что усиливает контраст между движущимися спеклами и фоном.

Используя этот метод обработки в сочетании с компактной системой ЛСКВ и модулем лазерной коагуляции, можно изучать мгновенный отклик перфузии сразу же после локального повреждения. В настоящей работе изменения микроциркуляционных потоков записывались до, во время и после воздействия на сосуд импульсов излучения Nd:YAG-лазера. Высокое качество изображения определялось методом обработки. Для количественной оценки изменений, индуцированных лазерной коагуляцией, рассчитывались плотность сосудов и относительная скорость кровотока. Результаты демонстрируют возможность отслеживать изменения микрососудистого кровотока

при локально индуцированном повреждении, что потенциально может быть использовано при изучении процесса лечения кожных ран.

2. Материалы и методы

2.1. Экспериментальная установка

Общая схема экспериментальной установки показана на рис. 1. Когерентный освещающий пучок от красного диодного лазера iFlex-2000 с длиной волны ~ 660 нм и выходной мощностью 50 мВт (Qioptiq Inc., США) коллимировался линзой и пропускался через линзу диффузора для равномерного освещения уха мыши, рассматриваемого под углом 45° относительно нормали к поверхности ткани. Нейтрально-серый светофильтр использовался для управления интенсивностью света, падающего на образец. Свет, рассеянный образцом в обратном направлении, пропускался через объектив с переменным фокусным расстоянием и регистрировался скоростной металлоксидной полупроводниковой камерой A504K (Basler, Германия). Увеличение системы было установлено равным $1.5\times$, а поле зрения имело размеры 9×5 мм. Для получения оптимальных изображений лазерных спеклов для камеры были установлены время экспозиции (0.9 мс) и частота (1107.4 кадр./с).

2.2. Подготовка животных

С целью доказательства расширенных возможностей нашего метода для визуализации немедленного отклика динамики кровотока в сосудах (особенно в капиллярном ложе) на повреждение мы получали изображения ушной раковины модельной мыши. Всего нами было исследовано и использовано для получения изображений пять безволосых мышей SKH-1E весом от 22 до 26 г (Charles River, США). Для каждого эксперимента мыши при помощи маски подвергались анестезии 1.5%-ным раствором изофлурана в смеси с потоком кислорода (0.2 л/мин) и воздуха (0.8 л/мин). С целью минимизации движений, связанных с дыханием и сердцебиением, ухо мыши фиксировалось двухсторонней липкой лентой к столику дорсальной стороной вверх. Для улучшения согласования показателей преломления ткани уха и воздуха на ухо наносился тонкий слой минерального масла. Лазерная коагуляция уха мыши осуществлялась наносекундным импульсным

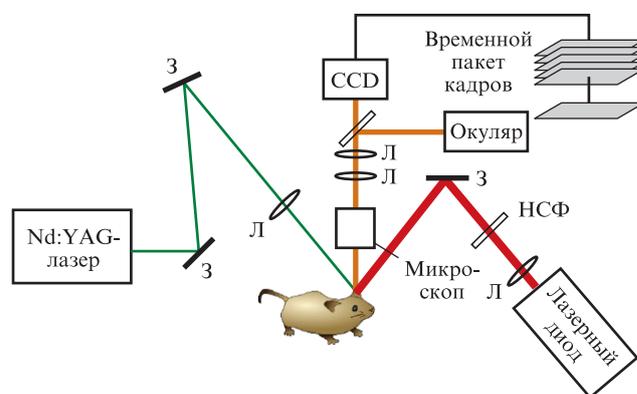


Рис. 1. Схема системы лазерной коагуляции и лазерной спекл-контрастной визуализации: З – зеркало; Л – линза; CCD – камера; НСФ – нейтрально-серый фильтр.

Nd:YAG-лазером Superlite OPO Plus с длиной волны 532 нм. Импульсный лазерный пучок сначала нацеливался на выбранную артерию в режиме низкой энергии (модуляция добротности, 430 мс), а затем в течение 30 с производилось локальное повреждение ушной раковины лазерным излучением с высокой энергией (модуляция добротности, 390 мс), в результате чего в выбранной артерии создавался тромб. Изображения лазерных спеклов непрерывно получали до, во время и после лазерной коагуляции.

2.3. Обработка изображений

Первоначальные данные с камеры обрабатывались в среде MATLAB для создания окончательной картины. Во временном наборе из 50 кадров определялось отношение интенсивностей соседних кадров

$$D_i(x, y) = \frac{I_i(x, y)}{I_{i+1}(x, y)},$$

где i – номер текущего, а $i + 1$ – следующего кадра. Затем находилась разность последовательных отношений в каждой точке по формуле [23]

$$\Delta D_i(x, y) = \frac{D_i(x, y) - D_{i+1}(x, y)}{2} \quad (2)$$

и рассчитывался спекл-контраст:

$$K_i(x, y) = \left(\frac{\sum_{i=1}^N \{ \Delta D_i(x, y) - \text{mean}[\Delta D(x, y)] \}^2}{N - 1} \right)^{1/2}, \quad (3)$$

где N – полное число кадров в одном наборе. Для уменьшения фонового шума использовался медианный фильтр.

3. Результаты

3.1. Мониторинг изменений кровотока

Время проведения данного эксперимента определялось минутами, причем данные собирались в течение нескольких секунд между кадрами. За начало отсчета времени принимался момент начала лазерной коагуляции; кадры, собранные до этого, соответствуют «отрицательному времени». Используемый метод обработки изображений фиксирует дискретность движения эритроцитов, так что чем быстрее они движутся, тем белее выглядят сосуды на финальном изображении. По существу, фиксируемый этим методом сигнал обусловлен тем, что один эритроцит покидает пиксель, а другой его заменяет. Однако, когда скорость красных кровяных телец превышает максимальную скорость, которую может отследить система ЛСКВ, происходит вымывание сигнала и сосуд оказывается черным. В этом случае дискретность движения отследить невозможно, поскольку клетки крови движутся так быстро, что изменение сигнала нельзя обнаружить [24]. Отсчет изменений ведется от опорного изображения, снятого перед началом лазерной коагуляции и показанного на рис.2,а, где место будущей коагуляции помечено черной точкой. Сразу же после облучения импульсами зеленого излучения Nd:YAG-лазера (длина волны 532 нм, пиковая энергия 65 мДж, длительность импульса ~3 нс) находящиеся ниже по течению кровотока капилляры (открытые стрелки на рис.2,б) видны намного хуже, чем на

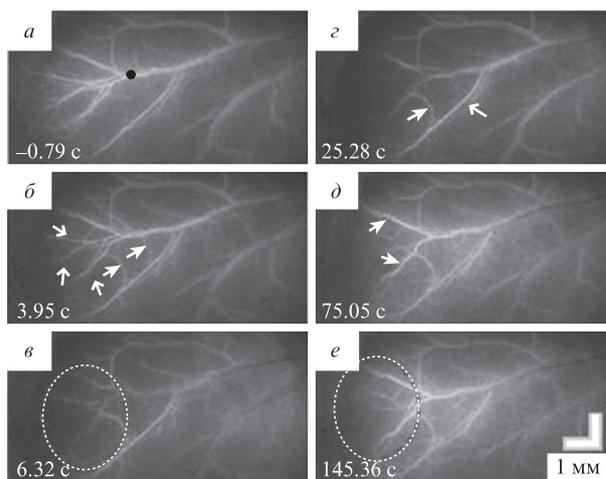


Рис.2. Лазерные спекл-контрастные изображения, извлеченные из видеозаписи: а – изображение, полученное перед облучением Nd:YAG-лазером; б, в, г, д и е – изображения, полученные после начала облучения в моменты времени, указанные на рисунках. Импульсы Nd:YAG-лазера воздействовали на ухо мыши с первой по тридцатую секунду с частотой 5 Гц, энергия в плоскости образца составляла около 1 мДж. Прицельная область отмечена черной точкой на рис.2,а.

опорной картине (рис.2,а). Между тем, анастомозные сосуды (закрытые стрелки на рис.2,б) проявляются гораздо сильнее, чем на опорном изображении, что свидетельствует о мягкой окклюзии прицельной артерии. При большем числе облучающих импульсов окклюзия более жесткая. Это можно увидеть на рис.2,в, где кровоток ниже окклюзии (отмечено овалом) значительно уменьшился и перестал обнаруживаться системой. Кроме того, кровоток через расположенную ниже коллатеральную артерию (открытая стрелка на рис.2,г) возрастает, и анастомозные сосуды (закрытая стрелка на рис.2,г) становятся видны в ишемической области. После прекращения воздействия лазерных импульсов повышенная перфузия наблюдается в ответвляющихся артериях (стрелки на рис.2,д), что может быть проявлением временной гиперемии, которая, вероятно, имеет место прямо после постокклюзионного восстановления сосуда. По мере вымывания временного тромба возмущенный кровоток постепенно восстанавливается (рис.2,е).

3.2. Количественная оценка относительных изменений скорости кровотока

Поскольку ЛСКВ не фиксирует каких-либо данных, касающихся распределения скоростей, можно рассчитать только относительные скорости между кадрами, которые трудно коррелировать с действительными скоростями [24]. Для количественной оценки изменений, наблюдаемых после лазерной коагуляции, изменения относительной скорости вычислялись в пяти различных позициях. Эти позиции, показанные на рис.3,а, были выбраны так, чтобы показать различные типы сосудов. Окклюдируемая артерия отмечена звездочкой и обозначена А, одна из ответвляющихся от нее артерий отмечена крестиком и обозначена В, один из анастомозных сосудов между окклюдируемой артерией и ее коллатералью отмечен треугольником и обозначен С; наконец, два сосуда, расположенных ниже по течению крови, отмечены прямоугольником и кружком и обозначены D и E соответственно. На рис.3,б де-

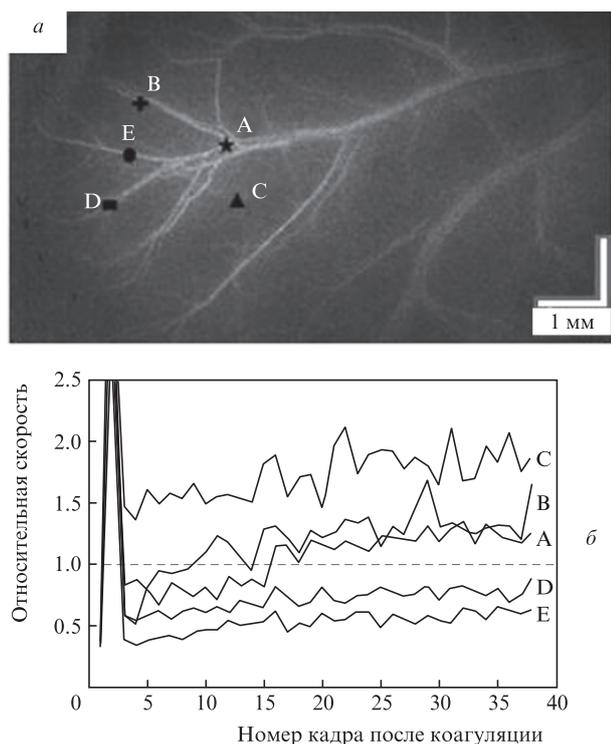


Рис.3. Изменения относительной скорости кровотока со временем в различных сосудах после лазерной коагуляции: *a* – положения, в которых вычислялись относительные скорости (С – прицельная точка сосуда, В – сосуд, подвергнутый окклюзии, D и E – сосуды ниже по течению крови, А – коллатеральный сосуд); *б* – относительная скорость в точках А, В, С, D и E после коагуляции.

монстрируется изменение относительной скорости кровотока после лазерной коагуляции. Кадры после коагуляции сняты после начала последнего импульса зеленого Nd:YAG-лазера, длительность каждого кадра составляет ~ 0.79 с. На рис.3,б у всех кривых имеется острый пик примерно на 30-й секунде эксперимента, который возникает из-за насыщения изображения спеклов, вызванного сильным импульсом лазера коагуляции. По окончании коагуляции скорость кровотока в окклюзированной артерии уменьшилась (кривая А), тогда как в ответвляющихся артериях (выше и ниже окклюзированной артерии) – возросла (кривая В). Тем временем кровоснабжение из коллатеральной артерии значительно увеличивалось через анастомозный сосуд (треугольник на рис.3,а), а скорость кровотока в анастомозном сосуде оставалась примерно в 1.5 раза большей его скорости в опорном изображении. В сосудах, расположенных значительно ниже по течению (кривые D и E), кровь текла медленно в начале окклюзии и ее скорость не вернулась к своему значению до коагуляции.

3.3. Количественная оценка изменений плотности сосудов

Для лучшего количественного определения изменений микрососудистой системы после коагуляции была рассчитана плотность сосудов и построена ее зависимость от времени. Для вычисления плотности сосудов в каждом изображении применялся алгоритм сегментации. Говоря коротко, в этом методе изображения преобразуются в двоичную форму с помощью адаптивной пороговой методики, специально созданной для количественного определения малых изменений в сосудистой сети [25], а плот-

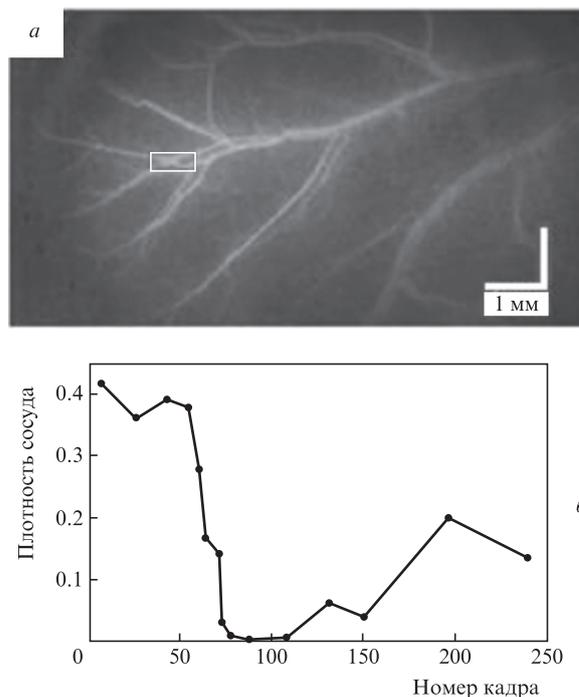


Рис.4. Зона, использованная для анализа плотности сосудов (отмечена прямоугольником) (*a*) и плотность сосудов за период сбора данных (*б*).

ность сосудов вычисляется путем деления их числа на полное число пикселей. На рис.4 показаны изменения плотности сосудов после лазерной коагуляции. Видно, что в течение этого процесса плотность сосудов, находящихся ниже по течению крови, уменьшается после облучения от 0.4 почти до нуля. Когда процесс коагуляции закончен, кровоток в окклюзированной артерии восстанавливается. Наблюдался рост плотности сосудов ниже места окклюзии по течению крови, так что к моменту окончания сбора данных плотность составляла 0.2–1.5.

4. Обсуждение и выводы

Итак, использование разработанной системы ЛСКВ в комбинации с процедурой лазерной коагуляции позволяло быстро обнаруживать изменения перфузии. Окклюзия нижней по течению крови части прицельной артерии мгновенно проявлялась в лазерном спекл-изображении одновременно с увеличением кровотока в сосудах, периферийных по отношению к окклюзируемой области. Возможность качественно определять изменения относительной скорости кровотока и количественно строить график плотности сосудов в исследуемой зоне усиливают прикладной потенциал разработанной системы. Экспериментальная реализация системы проста и дешева. Она легко адаптируема к другим приложениям, таким как исследование удара, индуцированного лазерной коагуляцией у животных. Нейтрально-серый фильтр позволяет регулировать мощность экспозиции, что обеспечивает гибкость установления времени экспозиции и помогает получать изображения сосудов с определенным диапазоном скоростей кровотока. Более длительная экспозиция могла бы дать лучшую визуализацию сосудов, однако малые времена экспозиции ускоряют сбор данных и позволяют улавливать более быстрые кровотоки. Изменения микрососудистой перфузии уверенно наблюдались на протяжении

непрерывной записи эксперимента по окклюзии. Видно, что главные события происходят во время лазерной коагуляционной экспозиции. Чернота, появляющаяся в сосудах выше места локализации тромба, которая видна в течение фотокоагуляции, указывает на превышение максимальной скорости, воспринимаемой алгоритмом. Возрастание скорости кровотока выше по течению необходимо для компенсации функции окклюзированных сосудов. Кроме того, в нашем исследовании выявлена большая роль коллатеральных сосудов и анастомозов в аварийном восстановлении ишемической области. Восстановление окклюзированных сосудов, видимое в последующие моменты времени, возможно, обусловлено вымыванием тромба из сосуда. Все эти изменения улавливались системой спустя всего лишь секунду после начала лазерной коагуляционной экспозиции.

На рис.3 представлены изменения относительной скорости кровотока в пяти выбранных пространственных положениях (А, В, С, D и E). На рис.3,б первоначально видимый всплеск (между кадрами 0 и 5) является результатом перенасыщения зеленым светом в течение лазерной коагуляции. Относительная скорость сначала снижается в точке А, где формируется тромб, а также в точках В, D, и E, поскольку артерии С поставляют кровь в эти точки. Из-за формирования тромба (точка А) коллатеральный сосуд из близлежащей артерии (точка С) снабжает кровью окклюзированный сосуд, пока тромб еще находится в точке А. Это видно по возрастанию относительной скорости в точке А. Случайные всплески, наблюдаемые в точке А, обусловлены случайными выбросами крови в процессе вымывания тромба. Эти резкие изменения приводят также к увеличению скорости кровотока в нижних ветвях артерии (точки D и E) и в окклюзированном сосуде (В). Когда тромб вымывается, относительная скорость в точке С падает, поскольку она более не нужна для кровоснабжения артерии. После исчезновения тромба относительная скорость во всех точках стабилизируется.

Изменения плотности сосудов подтвердили, что кровоток перенаправляется в коллатеральные артерии вокруг тромба, где последний затем используется для поддержания кровотока вокруг окклюзированных сосудов. Это перераспределение кровотока можно объяснить ростом давления в связи с блокированием сосуда. Поскольку объем крови постоянен, кровь, которая должна двигаться через место нахождения тромба, направляется в окружающие сосуды, давление в которых ниже. После прекращения фотокоагуляции плотность сосудов увеличивается, т. к. внезапное вымывание тромба высвобождает созданное давление, обуславливая выброс крови по мере того, как кровоток возвращается в ранее окклюзированные нижележащие сосуды.

Разработанная нами имиджинговая система ЛСКВ в комбинации с методом лазерной коагуляции продемонстрировала многообещающие возможности в исследовании ответа микрососудистой системы на локальное повреждение, что потенциально может улучшить понимание механизма лечения ран. Однако еще сохраняется широкое поле деятельности для улучшений, например для уве-

личения отношения сигнал/шум, которое в конце концов поможет повысить контраст изображения. Одно из ограничений существующей системы ЛСКВ – сильное рассеяние, обусловленное кожей. Способы ослабления рассеяния света биологическими тканями с помощью местных опико-просветляющих агентов изучались различными группами [26–28]. Это направление заслуживает внимания как попытка улучшить общее качество изображения. Полезно было бы определить оптимальную экспозицию и частоту дискретизации, чтобы получать изображения еще более высокого качества, сохраняя при этом способность улавливать быстрые изменения перфузии. Интересно также изучить связь между числом облучающих ткань импульсов и эффектом коагуляции. Для выяснения того, повреждена или нет окружающая ткань, может потребоваться гистологический анализ.

1. Singer A.J., Clark R.A. *New Engl. J. Med.*, **341**, 738 (1999).
2. Guo S., Dipietro L.A. *J. Dent. Res.*, **89**, 219 (2010).
3. Kirsner R.S., Eaglstein W.H. *Dermatol. Clin.*, **11**, 629 (1993).
4. Raut A.S., Prabhu R.H., Patravale V.B. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, **30**, 183 (2013).
5. Patwari P., Weissman N.J., Boppert S.A., Jesser C., Stamper D., Fujimoto J.G., et al. *Am. J. Cardiol.*, **85**, 641 (2000).
6. Joo C., Kim K.H., de Boer J.F. *Opt. Lett.*, **32**, 623 (2007).
7. Stewart C.J., Frank R., Forrester K.R., Tulip J., Lindsay R., Bray R.C. *Burns*, **31**, 744 (2005).
8. Boas D.A., Dunn A.K. *J. Biomed. Opt.*, **15**, 011109 (2010).
9. Richards L.M., Kazmi S.M., Davis J.L., Olin K.E., Dunn A.K. *Biomed. Opt. Express*, **4**, 2269 (2013).
10. Dunn A.K., Bolay H., Moskowitz M.A., Boas D.A. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **21**, 195 (2001).
11. Srienc A.I., Kurth-Nelson Z.L., Newman E.A. *Front Neuroenergetics*, **2**, 128 (2010).
12. Kalchenko V., Brill A., Bayewitch M., Fine I., Zharov V., Galanzha E., et al. *J. Biomed. Opt.*, **12**, 052002 (2007).
13. Kalchenko V., Kuznetsov Y., Meglinski I., Harmelin A. *J. Biomed. Opt.*, **17**, 050502 (2012).
14. Кузнецов Ю.Л., Кальченко В.В., Меглинский И.В. *Квантовая электроника*, **41**, 308 (2011).
15. Tripathi M.M., Hajjarian Z., Van Cott E.M., Nadkarni S.K. *Biomed. Opt. Express*, **5**, 817 (2014).
16. Jung Y., Dziennis S., Zhi Z., Reif R., Zheng Y., Wang R.K. *PLoS One*, **8**, e57976 (2013).
17. Wang R.K., Jacques S.L., Ma Z., Hurst S., Hanson S.R., Gruber A. *Opt. Express*, **15**, 4083 (2007).
18. Wang R.K., Hurst S. *Opt. Express*, **15**, 11402 (2007).
19. Wang R.K., An L., Francis P., Wilson D.J. *Opt. Lett.*, **35**, 1467 (2010).
20. An L., Qin J., Wang R.K. *Opt. Express*, **18**, 8220 (2010).
21. Jia W., Tran N., Sun V., Marincek M., Majaron B., Choi B., et al. *Lasers Surg. Med.*, **44**, 144 (2012).
22. Nizard J., Gussi I., Ville Y. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, **28**, 670 (2006).
23. Liu R., Qin J., Wang R.K. *J. Biomed. Opt.*, **18**, 060508 (2013).
24. Briers D., Duncan D.D., Hirst E., Kirkpatrick S.J., Larsson M., Steenbergen W., et al. *J. Biomed. Opt.*, **18**, 066018 (2013).
25. Reif R., Qin J., An L., Zhi Z., Dziennis S., Wang R. *Int. J. Biomed. Imaging*, **2012**, 509783 (2012).
26. Tuchin V.V., Maksimova I.L., Zimnyakov D.A., Kon I.L., Mavlyutov A.H., Mishin A.A. *J. Biomed. Opt.*, **2**, 401 (1997).
27. Wang R.K., Xu X., Tuchin V.V., Elder J.B. *J. Opt. Soc. Am. B*, **18**, 948 (2001).
28. Jiang J., Boese M., Turner P., Wang R.K. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 021105 (2008).