

ОПТИЧЕСКОЕ ПРОСВЕТЛЕНИЕ КОЖИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГЛИЦЕРИНА: ИССЛЕДОВАНИЯ *EX VIVO* И *IN VIVO*

© 2010 г. Э. А. Генина, А. Н. Башкатов, Ю. П. Синичкин, В. В. Тучин

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
410012, Саратов, Россия
E-mail: eagenina@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.02.2010 г.

Экспериментально исследовано изменение оптических параметров кожи лабораторной крысы *ex vivo* и *in vivo* под действием водного раствора глицерина. Получено увеличение коэффициента коллимированного пропускания образцов кожи *ex vivo* в 20–40 раз в зависимости от длины волны и снижение коэффициента диффузного отражения кожи *in vivo* в среднем на 16% в исследуемом спектральном диапазоне. Представленные результаты могут оказаться полезными для многих методов лазерной терапии и оптической диагностики заболеваний кожи и локализации подкожных новообразований.

ВВЕДЕНИЕ

Интерес к использованию оптических методов для диагностики и лечения различных заболеваний постоянно возрастает в связи с их относительной простотой, достаточно низкой себестоимостью и безопасностью для пациента. Однако серьезной проблемой современной лазерной медицины продолжает оставаться транспорт зондирующего излучения через поверхностные слои биоткани. В частности, при диагностике подкожных и внутрикожных заболеваний оптическими методами значительное рассеяние излучения в видимом и ближнем ИК спектральных диапазонах тканями кожи ограничивает пространственное разрешение и глубину зондирования [1–3]. Снижение светорассеяния посредством иммерсионного просветления биотканей является одним из возможных путей решения данной проблемы.

Хорошо известно, что основной причиной рассеяния оптического излучения в клеточных структурах и биотканях является различие показателей преломления между структурными компонентами ткани (коллагеновыми и эластиновыми волокнами) и внутритканевой средой, а также между клеточными органеллами и цитоплазмой клеток [1–3]. Метод оптического просветления биоткани основывается на действии на ткань биосовместимого иммерсионного вещества, так называемого просветляющего агента (ПА), имеющего, как правило, высокую осмолярность и более высокий показатель преломления, чем внутритканевая жидкость [4]. В настоящее время для объяснения снижения светорассеяния биотканей за счет влияния ПА предложено несколько механизмов [5–11]: осмотическая дегидратация био-

ткани, частичная замена внутритканевой жидкости на ПА, при которой происходит согласование показателей преломления структурных компонент биоткани, структурная модификация или диссоциация коллагена биоткани.

Первый механизм характерен только для гиперосмотических ПА. Он выражается в удалении воды из внутритканевого или межклеточного пространства. Концентрация растворимых компонентов, входящих в состав внутритканевой жидкости, повышается, и показатель ее преломления соответственно увеличивается. Помимо согласования показателей преломления фибрилл или органелл и окружающей среды в результате дегидратации увеличивается плотность упаковки и упорядоченность рассеивателей (клеточных структур, коллагеновых и эластиновых волокон), что также способствует оптическому просветлению биоткани [9–11].

Второй механизм наблюдается в основном для фиброзных тканей, к числу которых относится дерма кожи, поскольку размеры молекул ПА значительно меньше среднего диаметра поперечного сечения межфибриллярных промежутков, который составляет порядка 185–200 нм, в то время как, например, диаметр крупной молекулы полиэтиленгликоля (молекулярный вес 20000 Д) меньше 5 нм [4, 5, 8, 9, 12]. Как первый, так и второй механизм вызывают согласование показателей преломления основных рассеивающих объектов и цитоплазмы (для клеточных структур) или внутритканевой жидкости (для фиброзных тканей).

Структурная модификация коллагена также приводит к изменению рассеяния биоткани. Как известно, коллаген обладает растворимостью в сахарах (глюкоза, фруктоза и др.) и сахарных

спиртах (этиленгликоль, глицерин, сорбитол и др.) [6, 7]. Было отмечено, что эти ПА вызывают набухание биотканей и диссоциацию коллагеновых фибрилл на микрофибриллы [6, 7]. Эта дестабилизация структуры коллагена может приводить к дополнительному снижению рассеяния света биотканью за счет уменьшения размеров рассеивателей [6]. Однако в работе [13] отмечается, что, несмотря на уменьшение диаметра фибрилл, растворы глицерина вызывают значительное набухание биоткани, в частности кожи, что приводит к уменьшению ее прозрачности. В то же время в ряде работ наблюдается оптическое просветление биоткани (твердая мозговая оболочка, склера), сопровождающееся ее некоторым набуханием [14–16].

Следует также отметить, что в реальности первые два механизма могут проявляться одновременно, различаясь лишь степенью вклада в просветляющий эффект в зависимости от типа ПА и биоткани. Третий механизм оказывает влияние на степень просветления, по-видимому, только при длительном воздействии гиперосмотических иммерсионных жидкостей на биоткань. В работе [13] было показано, что в течение 30 мин после инъекции растворов глицерина в кожу крысы *in vivo* диссоциации коллагеновых фибрилл не наблюдалось.

Глицерин является одним из наиболее широко используемых ПА для оптического просветления кожи. Многочисленные эксперименты *in vitro* показали, что водные растворы глицерина различной концентрации увеличивают прозрачность образцов кожи за счет снижения ее рассеивающих характеристик [5, 6, 9, 11, 17–20]. Однако механизм просветления биоткани глицерином носит сложный характер и до конца не исследован. Кроме того, при использовании данного метода для просветления кожи *in vivo* возникают дополнительные факторы, такие как метаболическая реакция живой биоткани на гиперосмотический иммерсионный агент, особенности функционирования биоткани и влияние физиологической температуры на скорость процесса, которые необходимо учитывать, поскольку они могут значительно изменять как скорость, так и величину просветляющего эффекта. При использовании в качестве ПА растворов глицерина высокой концентрации могут иметь место побочные эффекты, такие как нарушение структуры биоткани и стаз мелких кровеносных сосудов [17].

В настоящей работе представлены результаты исследований *ex vivo* и *in vivo* изменения оптических свойств кожи при воздействии на нее водным раствором глицерина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подготовка образцов кожи к проведению спектральных измерений ex vivo

Эксперименты *ex vivo* выполнялись на 10 образцах кожи белой лабораторной крысы, взятых от разных животных в течение 1 ч *post mortem*. Время от момента аутопсии до проведения измерений составляло не более 15 мин. Перед началом экспериментов волосяной покров с поверхности образцов и подкожный жировой слой тщательно удалялись. Кожа разрезалась на образцы размером около 1 × 1.5 см. Толщина образцов биоткани измерялась микрометром, для чего образцы помещались между двумя предметными стеклами, и измерения выполнялись в нескольких точках образца. Погрешность каждого измерения ±50 мкм. Полученные значения усреднялись. Среднее значение толщины исследуемых образцов до воздействия глицерина составило 0.57 ± 0.16 мм, после проведения спектральных измерений – 0.58 ± 0.2 мм. Среднеквадратичное отклонение (*SD*) рассчитывалось по формуле

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (\bar{A} - A_i)^2}{N(N-1)}}$$

где N – число исследованных образцов, A_i – значение толщины i -го образца биоткани и \bar{A} – среднее значение толщины, найденное по формуле $\sum_{i=1}^N A_i / N$. Все эксперименты проводились при комнатной температуре.

Подготовка животных к проведению спектральных измерений in vivo

Измерения *in vivo* спектров диффузного отражения проводились на трех белых лабораторных крысах. Возраст крыс составлял около 9 месяцев, вес – около 200 г. Животные были анестезированы с помощью интраперитонеальной инъекции 1%-го раствора *natrium ethaminal* дозой 40 мг на 1 кг веса животного. После обездвиживания животного на участке измерения (бедро) удалялся волосяной покров. Для преодоления защитного барьера эпидермиса введение ПА выполнялось в виде подкожной инъекции. Объем вводимого препарата составлял 0.1 мл.

В качестве ПА использовался стандартный 84.4%-ный раствор глицерина в воде (ЗАО ЭКОлаб, Россия). Показатель преломления раствора, измеренный на рефрактометре Аббе (длина волны 589 нм), составлял 1.452, n_D 6.5.

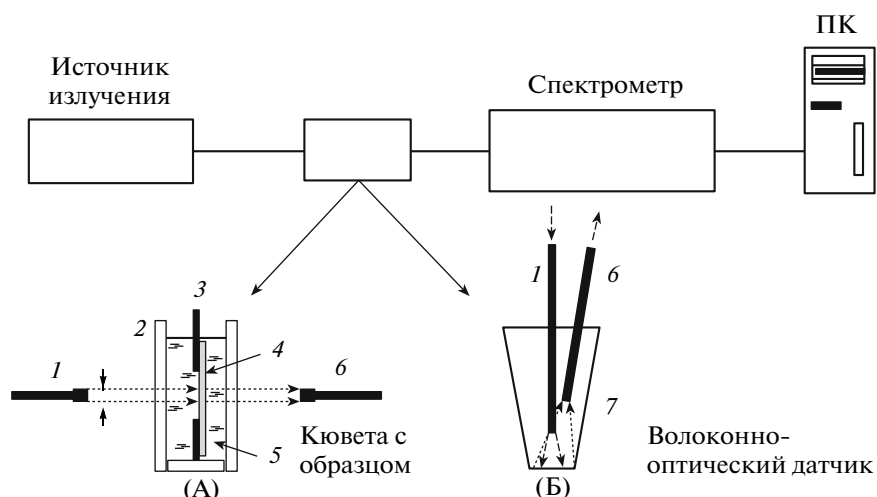


Рис. 1. Схема экспериментальной установки для регистрации спектров коллимированного пропускания (А) и диффузного отражения (Б): 1 — световод, подводящий излучение к образцу биоткани, 2 — кювета, 3 — рамка для закрепления образца кожи, 4 — образец кожи, 5 — иммерсионная жидкость, 6 — световод, собирающий излучение, прошедшее через образец, 7 — корпус для закрепления оптических волокон.

Экспериментальная установка и методики проведения измерений

Измерение спектров коллимированного пропускания проводилось на многоканальном спектрометре USB4000 (Ocean Optics, США) в спектральном диапазоне 400–1000 нм. Схема экспериментальной установки показана на рис. 1 (А). Источником излучения служила галогенная лампа HL-2000 (Ocean Optics, США).

Для измерения коллимированного пропускания образцы кожи закреплялись на рамке с отверстием 7×7 мм и помещались в кювету между двумя специализированными волоконно-оптическими кабелями (P400-1-UV-VIS, Ocean Optics, США) с внутренним диаметром 400 мкм. Одно волокно служило для доставки излучения к образцу, а другое — для сбора прямо прошедшего излучения. Для обеспечения коллимированности пучка на торцах волокон с помощью стандартных разъемов SMA-905 закреплялись коллиматоры 74-ACR (Ocean Optics, США).

В качестве сигнала сравнения использовался сигнал от кюветы объемом 5 мл, заполненной исследуемым агентом. Затем на рамке закреплялся образец кожи, и рамка помещалась в кювету. В данной геометрии взаимодействие ПА с образцом кожи осуществлялось в основном через дерму. Запись спектров проводилась каждые 2–5 мин в течение 2 ч.

Измерение спектров диффузного отражения проводилось на многоканальном спектрометре ЛЭСА-6 мед (БиоСпек, Россия) в спектральном диапазоне 400–700 нм. Схема экспериментальной установки показана на рис. 1 (Б). Источником излучения служила ксеноновая лампа мощностью 250 Вт. Для измерений использовался во-

локно-оптический датчик, состоящий из двух волокон, внутренний диаметр которых составлял 400 мкм, числовая апертура 0.2. Центральное волокно служило для доставки излучения к поверхности кожи, а боковое волокно использовалось для сбора диффузно отраженного излучения. Волокна закреплялись в корпусе для обеспечения фиксированного расстояния между концами волокон и поверхностью образца. Расстояние между осветительным волокном и поверхностью кожи составляло 12 мм. Конфигурация используемого в эксперименте волоконно-оптического датчика обеспечивала нормальное освещение поверхности кожи пятном диаметром 4 мм и сбор отраженного кожей излучения под углом 20° относительно подводящего световода с участка ее поверхности диаметром 8 мм. Соотношение площадей засветки и светосбора составляло приблизительно один к четырем. Такая геометрия датчика давала возможность регистрировать только диффузное отражение света кожей, исключая зеркально отраженный компонент, при этом минимизировались потери обратно рассеянного излучения в длинноволновой области спектра.

Датчик регистрировал усредненный по площади сбора излучения сигнал. Воспроизводимость результатов измерений находилась в пределах 5%. При регистрации отраженного сигнала датчик помещался в область инъекции ПА вплотную к поверхности кожи. В качестве эталона отражения использовался отражательный стандарт WS-1-SL (Ocean Optics, США).

Измерения проводились сначала на интактной коже, а затем каждые 30 с после инъекции ПА в течение 25 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спектры коэффициента коллимированного пропускания T_c и кинетика его изменения на нескольких длинах волн для одного из образцов цельной кожи под действием глицерина представлены соответственно на рис. 2 и 3. Они демонстрируют изменение оптических свойств кожи в процессе ее взаимодействия с раствором глицерина. Различия в спектрах образцов составляли около 20% и были вызваны их различной толщиной и индивидуальными особенностями строения (наличие уплотнений коллагеновых волокон, кровеносных сосудов и т.д.).

Форма спектра пропускания кожи определяется спектральными зависимостями коэффициентов рассеяния и поглощения биоткани [21]. Кожа имеет сложную неоднородную структуру, в состав которой входят как клеточные, так и фиброзные слои, и кроме того, в объеме кожи неравномерно распределены кровь и различные хромофоры и пигменты [22, 23]. Особенностью кожи крысы является отсутствие в ее составе меланина.

Основными различаемыми слоями кожи крысы по направлению от поверхности являются эпидермис (бескровный слой) и дерма (содержит сосудистые сплетения). Поскольку толщина дермы значительно превышает толщину эпидермиса, то дерма является слоем, вносящим определяющий вклад в формирование спектров поглощения и рассеяния кожи [3, 21]. Она представляет собой типичную фиброзную биоткань, основными компонентами которой являются коллагеновые и эластиновые волокна, сгруппированные в хаотично переплетающиеся пучки, и внутритканевая жидкость, содержащая растворенные в воде соли и белки [3]. Коллагеновые и эластиновые волокна находятся в гидратированном состоянии внутри ткани [24].

Хорошо известно, что рассеивающие свойства фиброзных тканей определяются их структурой и различием показателей преломления между структурными компонентами (гидратированными коллагеновыми и эластиновыми волокнами) ($n_c = 1.47$) и внутритканевой жидкостью ($n_l = 1.345$) [3]. Поскольку дерма содержит разветвленную капиллярную сеть, то в видимом диапазоне длин волн основным поглотителем является гемоглобин крови. Полосы поглощения оксигенированного гемоглобина имеют максимумы на длинах волн 420, 547 и 577 нм. Однако на рис. 2 хорошо видно, что в начальный момент времени (1) полосы поглощения крови не оказывают влияния на форму спектра. Это связано, по-видимому, с тем, что они маскируются на фоне сильного рассеяния образца. Из рис. 2 и 3 следует, что в начальный момент времени образец кожи являлся слабо прозрачным для оптического излучения (коэффициент пропускания для различных длин

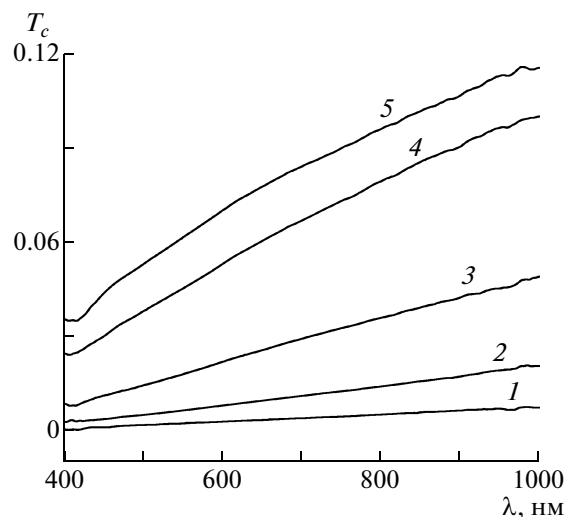


Рис. 2. Спектры коэффициента коллимированного пропускания образца цельной кожи крысы *ex vivo*, зарегистрированные в различные моменты времени, при воздействии на образец раствора глицерина: 0 (1), 8 (2), 16 (3), 30 (4), 120 мин (5).

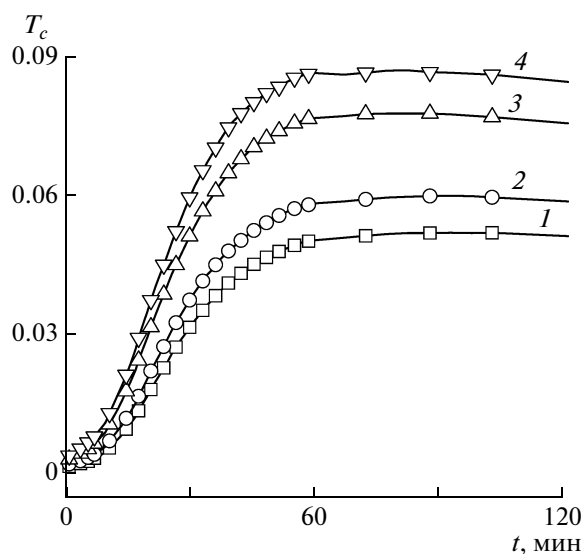


Рис. 3. Кинетика изменения коэффициента коллимированного пропускания образца цельной кожи крысы *ex vivo* под действием раствора глицерина на нескольких длинах волн: 488 (1), 532 (2), 633 (3), 700 нм (4).

волн составляет не более 0.005%). На рис. 2 хорошо видно, что в результате оптического просветления кожи в спектре (5), соответствующем 120 мин воздействия ПА, становится заметна полоса Соре (420 нм). Отсутствие менее ярко выраженных полос поглощения крови в диапазоне 500–600 нм связано с малой вероятностью эффективного поглощения фотонов при их прямом прохождении через образец биоткани при его про-

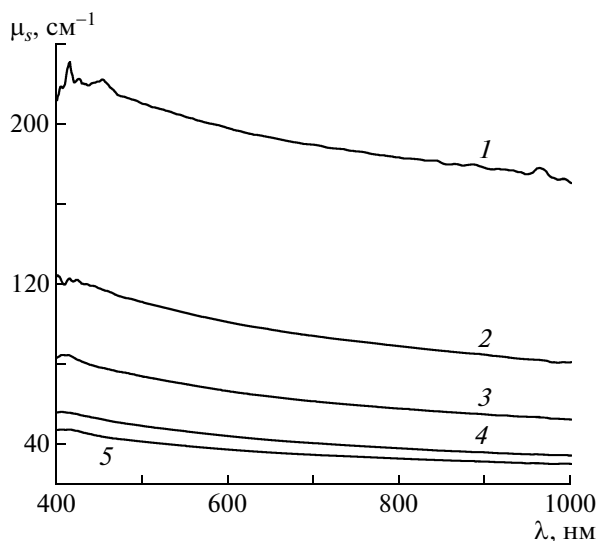


Рис. 4. Спектры коэффициента рассеяния кожи *ex vivo*, рассчитанные на основе закона Бугера–Беера в различные моменты времени, при воздействии на образец раствора глицерина: 0 (1), 8 (2), 16 (3), 30 (4), 120 мин (5).

светлении. Следует учитывать и малую кровенаполненность образцов кожи при проведении измерений *ex vivo*.

В процессе оптического просветления кожи коэффициент коллимированного пропускания образца монотонно возрастает во всем исследуемом диапазоне длин волн. Кривые, представленные на рис. 3, соответствуют коэффициенту пропускания кожи на длинах волн нескольких лазерных источников излучения, часто использующихся в лазерной терапии (рубиновый/александритовый — 694/700 нм, гелий-неоновый — 632.8 нм и аргоновый лазер — 488 нм, вторая гармоника излучения лазера на иттрий-алюминиевом гранате с неодимом — 532 нм). Хорошо видно, что в течение часа T_c увеличивается в 20–40 раз в зависимости от длины волны. При этом можно предположить, что диффузия глицерина в кожу и воды из межтканевого пространства в окружающий раствор по градиенту концентрации происходит одновременно. Оба процесса вносят вклад в увеличение коэффициента коллимированного пропускания в течение первых 60 мин. Однако в период от 60 до 120 мин происходит насыщение и даже некоторое снижение величины коллимированного пропускания T_c , что можно, по-видимому, объяснить результатом взаимодействия обновленной внутритканевой жидкости (с некоторым количеством глицерина и уменьшенным количеством воды) с гидратированными коллагеновыми и эластиновыми волокнами, у которых за счет отдачи воды начинает повышаться показатель преломления. При этом несколько понижается показатель

преломления внутритканевой жидкости за счет выхода воды из волокон в межволоконное пространство. Оба процесса приводят к некоторому повышению рассеяния света на волокнах и соответственно к некоторому затемнению образца.

Как известно, ослабление коллимированного пучка в биоткани происходит по экспоненциальному закону, и интенсивность прошедшего коллимированного света через тонкий образец ткани может быть оценена на основе закона Бугера–Беера [1]. Таким образом, коэффициент ослабления μ_t света в биоткани приближенно определяется по формуле

$$\mu_t = (-1/z) \ln T_c(t),$$

где z — толщина образца, $T_c(t)$ — коэффициент коллимированного пропускания образца в процессе просветления. Коэффициент ослабления определяется как поглощением, так и рассеянием биоткани $\mu_t = \mu_a + \mu_s$, где μ_a и μ_s — коэффициенты поглощения и рассеяния соответственно. Поскольку в данном спектральном диапазоне средний коэффициент поглощения кожи значительно меньше коэффициента рассеяния, $\mu_a \ll \mu_s$ [21], то можно считать, что коэффициент ослабления определяется главным образом коэффициентом рассеяния. Спектр μ_s , рассчитанный описанным способом, представлен на рис. 4. Рисунок демонстрирует снижение коэффициента рассеяния в 4.5–6 раз в зависимости от длины волны.

В спектрах диффузного отражения R_d интактной кожи *in vivo* (рис. 5а) отчетливо видно влияние трех полос поглощения оксигенированного гемоглобина. Как следует из рис. 5, в первые 3.5–4 мин (рис. 5а) наблюдается снижение R_d кожи в среднем на 16%. При этом форма спектров практически не меняется. В течение последующих 5–6 мин наблюдается обратное явление — повышение коэффициента диффузного отражения приблизительно на 20% также без изменения формы спектров (рис. 5б). В дальнейшем вплоть до окончания измерений уровень сигнала сохраняется, однако наблюдается деформация спектров отражения в спектральных диапазонах, соответствующих областям поглощения крови (рис. 5в).

На рис. 6 показана динамика изменения коэффициента диффузного отражения кожи на тех же длинах волн, которые были представлены на рис. 3. Символами обозначены экспериментальные данные.

Анализ полученных спектров и динамических кривых позволяет предположить, что взаимодействие раствора глицерина высокой концентрации непосредственно с дермой кожи *in vivo* можно приблизительно разделить на три этапа. На начальном этапе введение глицерина в дерму способствует оптической иммерсии, т.е. согласованию показателей преломления рассеивателей и

окружающей их среды. Этот процесс приводит к уменьшению рассеяния кожи и, следовательно, к снижению коэффициента отражения (рис. 5а). С другой стороны, глицерин как гиперосмотический агент вызывает диффузию свободной воды из ткани, окружающей участок инъекции, в зону локализации глицерина. При этом он связывает молекулы воды в межфибрилярном пространстве. Как известно, глицерин является сильно гигроскопичным веществом и, находясь во влажной среде, присоединяет молекулы воды до достижения уровня насыщения (55 объемных процентов). Было показано, что каждая молекула глицерина может связать шесть молекул воды [25]. Таким образом, на втором этапе участок дермы, взаимодействующий с глицерином, набухает за счет присоединенной воды. При этом показатель преломления раствора глицерина во внутритканевом пространстве снижается по сравнению с первым этапом, что отражается в росте коэффициента отражения кожи (рис. 5б).

Деформация спектров отражения на третьем этапе просветления связана с взаимодействием глицерина с сосудами кожи. Изменение положения максимума поглощения гемоглобина в полосе Соре с 428 нм, снижение поглощения на длинах волн 547 и 577 нм и появление максимума поглощения на длине волны 555 нм соответствует переходу гемоглобина из оксигенированной формы в деоксигенированную [26]. Этот процесс может быть вызван стазом микрососудов и капилляров дермы под действием глицерина. В работе [17] было показано, что нанесение раствора глицерина 75% непосредственно на брыжеечные сосуды крысы *in vivo* вызывало расширение и стаз сосудов, а также локальный интраваскулярный гемолиз, ограниченный областью воздействия глицерина.

Таким образом, наблюдаются значительные различия как в кинетике, так и в степени просветления кожи *ex vivo* и *in vivo*. Время, в течение которого биоткань достигала максимальной прозрачности, при исследованиях *ex vivo* существенно превышает время просветления исследуемого участка кожи *in vivo*. Если при воздействии раствора глицерина на образец кожи это время составляло более одного часа, то в случае воздействия этого же раствора на живую ткань процесс просветления продолжался всего 3–4 мин. Это является, по-видимому, следствием метаболизма живой ткани.

Кроме того, в отличие от просветления образцов кожи *ex vivo* процесс изменения рассеивающих характеристик кожи *in vivo* не является монотонным. Это вызвано, на наш взгляд, различиями в механизмах просветления *in vivo* и *ex vivo*. Если при воздействии *ex vivo* вода, находящаяся во внутритканевом пространстве, покидает область наблюдения, а глицерин проникает в эту область

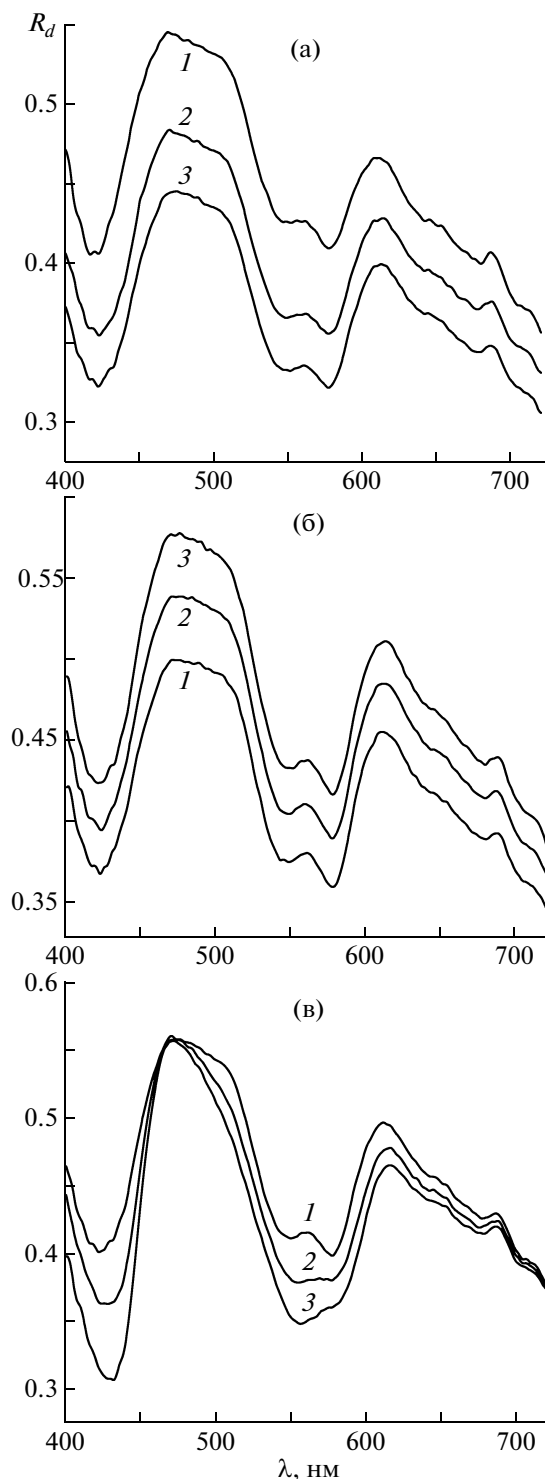


Рис. 5. Спектры коэффициента диффузного отражения кожи крысы *in vivo*, снятые в различные моменты времени после подкожной инъекции 84.4%-го раствора глицерина. а – первый этап просветления: 0 (1), 1.5 (2), 3.5 мин (3); б – второй этап просветления: 5.5 (1), 7.5 (2), 10.5 мин (3); в – третий этап просветления: 11 (1), 15 (2), 20 мин (3).

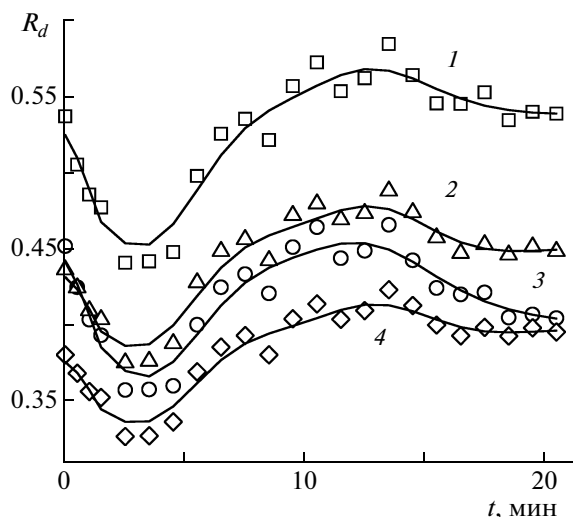


Рис. 6. Кинетика изменения коэффициента диффузного отражения кожи крысы *in vivo* на нескольких длинах волн: 488 (1), 532 (2), 633 (3), 700 нм (4).

в соответствии с градиентом концентрации, то при исследовании *in vivo*, напротив, вода диффундирует в область локализации глицерина, т.е. в область наблюдения, а глицерин стремится проникнуть в окружающие области. В отличие от результатов работы [13], где сразу же после инъекции глицерина в кожу наблюдалось повышение коэффициента отражения, т.е. замутнение биоткани, в нашей работе отмечено снижение коэффициента отражения за счет, по-видимому, распространения глицерина внутри дермы от места инъекции как к поверхности кожи, так и вдоль нее.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований, представленных в данной работе, показали, что использование водного раствора глицерина в качестве ПА позволяет достаточно эффективно управлять оптическими свойствами кожи. В частности, наблюдаются увеличение коэффициента коллимированного пропускания образцов кожи *ex vivo* в 20–40 раз в зависимости от длины волны и снижение коэффициента диффузного отражения кожи *in vivo* в среднем на 16% в спектральном диапазоне 400–700 нм, что будет способствовать увеличению глубины проникновения оптического излучения в биоткань. Изменение формы спектров диффузного отражения свидетельствует о стаже микрососудов и капилляров кожи в области локального воздействия глицерина.

В работе предложено объяснение механизма взаимодействия раствора глицерина с кожей *ex vivo* и *in vivo*.

Представленные результаты могут оказаться полезными для многих методов лазерной терапии и оптической диагностики заболеваний кожи и локализации подкожных новообразований.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 08-02-92224), проектов №№ 2.1.1/4989 и 2.2.1.1/2950 Программы развития потенциала высшей школы РФ (2009–2010), проекта Саратовского государственного университета № 1.4.09 Федерального агентства образования РФ (2009–2010) и Государственного контракта № 02.740.11.0484.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тучин В.В. Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях. Саратов: Изд-во СГУ, 1998. 384 с.
2. Biomedical Photonics Handbook / Ed. by Vo-Dinh T. Boca Raton: CRC Press, 2003.
3. Tuchin V.V. Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis. Bellingham: SPIE Press, 2007. 882 p.
4. Tuchin V.V., Maksimova I.L., Zimnyakov D.A., Kon I.L., Mavlutov A.H., Mishin A.A. // J. Biomed. Opt. 1997. V. 2. P. 401–417.
5. Vargas G., Chan E.K., Barton J.K., Rylander III H.G., Welch A.J. // Las. Surg. Med. 1999. V. 24. P. 133–141.
6. Yeh A.T., Choi B., Nelson J.S., Tromberg B.J. // J. Invest. Dermatol. 2003. V. 121. P. 1332–1335.
7. Yeh A.T., Hirshburg J. // J. Biomed. Opt. 2006. V. 11. P. 014003.
8. Bashkatov A.N., Korolevich A.N., Tuchin V.V., Sinichkin Y.P., Genina E.A., Stolnitz M.M., Dubina N.S., Vecherinski S.I., Belsley M.S. // Asian J. Phys. 2006. V. 15. № 1. P. 1–14.
9. Tuchin V.V. Optical Clearing of Tissues and Blood. PM154. Bellingham: SPIE Press, 2006.
10. Rylander C.G., Stumpp O.F., Milner T.E., Kemp N.J., Mendenhall J.M., Diller K.R., Welch A.J. // J. Biomed. Opt. 2006. V. 11. № 4. P. 041117.
11. Genina E.A., Bashkatov A.N., Korobko A.A., Zubkova E.A., Tuchin V.V., Yaroslavsky I.V., Altshuler G.B. // J. Biomed. Opt. 2008. V. 13. № 2. P. 021102.
12. Genina E.A., Bashkatov A.N., Zubkova E.A., Kamenskikh T.G., Tuchin V.V. // Opt. Las. Engin. 2008. V. 46. P. 915–920.
13. Wen X., Mao Z., Han Zh., Tuchin V.V., Zhu D. // J. Biophoton. 2010. V. 3. № 1–2. P. 44–52.
14. Bashkatov A.N., Genina E.A., Sinichkin Yu.P., Kochubey V.I., Lakodina N.A., Tuchin V.V. // Biophys. J. 2003. V. 85. № 5. P. 3310–3318.
15. Генина Э.А., Башкатов А.Н., Кочубей В.И., Тучин В.В. // Опт. и спектр. 2005. Т. 98. № 3. P. 515–521.
16. Genina E.A., Bashkatov A.N., Lakodina N.A., Murikhina S.A., Sinichkin Yu.P., Tuchin V.V. // Proc. SPIE. 2000. V. 4001. P. 255–261.
17. Galanzha E.I., Tuchin V.V., Solovieva A.V., Stepanova T.V., Luo Q., Cheng H. // J. Phys. D. 2003. V. 36. № 14. P. 1739–1746.

18. *Cicchi R., Pavone F.S., Massi D., Sampson D.D.* // *Opt. Expr.* 2005. V. 13. № 7. P. 2337–2344.
19. *Plotnikov S., Juneja V., Isaacson A.B., Mohler W.A., Campagnola P.J.* // *Biophys. J.* 2006. V. 90. P. 328–339.
20. *Mao Z., Zhu D., Hu Y., Wen X., Han Z.* // *J. Biomed. Opt.* 2008. V. 13. № 2. P. 021104.
21. *Bashkatov A.N., Genina E.A., Kochubey V.I., Tuchin V.V.* // *J. Phys. D.* 2005. V. 38. P. 2543–2555.
22. *Odland G.F.* // *Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin. V. 1* / Ed. by Goldsmith L.A. Oxford: Oxford University Press, 1991. P. 3–62.
23. *Young A.R.* // *Phys. Med. Biol.* 1997. V. 42. P. 789–802.
24. *Culav E.M., Clark C.H., Merrilees M.J.* // *Phys. Therapy.* 1999. V. 79. P. 308–319.
25. *Wiechers J.W., Dederen J.C., Rawlings A.V.* // *Skin Moisturization* / Ed. by Rawlings A.V., Leyden J.J. Taylor & Francis, Inc. 2009. P. 309–321.
26. *Prahl S.A.* // <http://www.omlc.ogi.edu/spectra/>, 1999.