

РОЗДІЛ 1

ТЕОРЕТИЧНИЙ БАЗИС МЕТОДІВ БІОФОТОМЕТРІЇ

СВІТЛОРОЗСІЯННЯ

У даному розділі представлені результати аналітичного огляду та літературного пошуку, що розкривають проблематику порушуваних у монографії задач. Зокрема, наведені та охарактеризовані області застосування методів біофотометрії, що найчастіше використовуються при оптичній біомедичній діагностиці та клінічних процедурах за певною медичною спеціалізацією. Проаналізовані особливості поширення оптичного випромінювання в біологічних середовищах, а також основні принципи теорії переносу випромінювання, що математично та аналітично інтерпретують цей процес. Проаналізовані оптичні властивості окремих біологічних середовищ та розглянуті типові інформаційно-вимірвальні засоби, що застосовуються для їх дослідження.

1.1 Застосування методів біофотометрії в дослідженні біологічних середовищ

Застосування методів біофотометрії при дослідженні різноманітних біологічних середовищ передбачає врахування особливостей генерації електромагнітного випромінювання оптичного діапазону, його детектування, спектроскопічного аналізу хімічного складу, оптико-механічного, оптико-електронного та математично-статистичного проектування інформаційно-вимірвальних засобів з метою біомедичної діагностики, терапії, моніторингу, візуалізації, хірургії тощо. Синонімічним рядом термінологічного використання методів біофотометрії є також аналітика методів біофотоніки або біомедичної оптики, що так само описують процеси взаємодії світла з біологічним середовищем.

Рисунок 1.1 ілюструє можливі, але не вичерпні, результати такої взаємодії, що можуть проявлятися у пропусканні, відбитті, поглинанні, флуоресценції, розсіянні тощо і використовуватись для аналізу біологічних тканин та середовищ, а також їх структурних або модифікованих компонентів. Слід зазначити, що на рис. 1.1 показано як випадок дослідження квазі-однорідного середовища, так і середовища з окремими неоднорідностями, з відповідними значущими оптичними коефіцієнтами, що характеризують частку відбитого (R), поглинутого (A та A'), пропущеного (T та T') та розсіяного (S та S') світла по відношенню до падаючого. У залежності від характеристик падаючого оптичного випромінювання, властивостей біологічних середовищ (БС) та методу аналізу може спостерігатись спектральна залежність окремих або всіх видів взаємодії. Слід зазначити, що у випадку локалізації модифікованої

структури поблизу поверхні досліджуваного БС, на яку падає зондує випромінювання, слід розглядати ще й коефіцієнт дифузного відбиття середовища модифікованої структури.

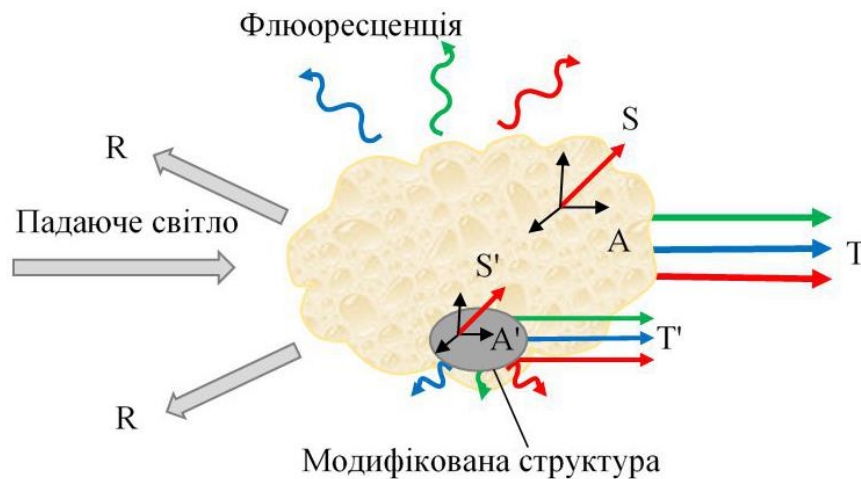


Рис. 1.1 Взаємодія світла з біологічним середовищем [1]:

R – коефіцієнт відбиття; S – коефіцієнт розсіяння БС; S' – коефіцієнт розсіяння модифікованої структури БС; A – коефіцієнт поглинання БС; A' – коефіцієнт поглинання модифікованої структури БС; T – коефіцієнт пропускання БС; T' – коефіцієнт пропускання модифікованої структури БС

Окрім властивостей до швидкого оптичного дослідження клітинних структур та їх функцій на тканинному рівні та на рівні органів з максимальною точністю та чутливістю використання світла не завдає досліджуваним об'єктам шкоди [2]. Ці особливості роблять методи біофотоніки унікальним інструментом для більшості сучасних біологічних та медичних наук. Прикладне застосування методів біофотоніки полягає у 2D та 3D візуалізації клітин, тканин та органів; неінвазивному дослідженні біометричних параметрів; терапевтичній обробці уражених, хворих або небажаних клітин; виявленні пошкоджених клітин та тканин; моніторингу загоювання ран і прогресу терапевтичних методів лікування; хірургічних процедурах, зокрема таких як лазерне розрізання, абляція та видалення [2].

Поміж інших, виділимо наступні дві області застосування методів біофотоніки [1, 2]. До першої області відносять оптичні біомедичні дослідження, іншими словами оптичну біомедичну діагностику. У цьому випадку методи та засоби [3 – 5] біофотометрії використовують для:

- виявлення основних функцій клітин і молекул;
- дослідження етіології захворювань з метою розробки механізму їх ранньої діагностики;
- розробки таргетної терапії та мінімально інвазивного лікування;
- контролю за станом здоров'я з метою профілактики захворювань.

Другу область складають клінічні процедури, що використовують в рамках окремої медичної спеціалізації:

- кардіологія (включаючи васкулярну медицину та ангіологію) – використання лазерів та оптичних волокон для пошуку і візуалізації атеросклеротичних бляшок, діагностики функцій серця, моніторингу процедур лазерної хірургії фібриляції передсердь, зниження стенокардії, діагностики мікроциркуляції, лікування варикозного розширення вен та лікування захворювань кровоносної та лімфатичної систем тощо [6 – 9];

- стоматологія – виявлення карієсу та тріщин у зубах, абляція м'яких та твердих тканин, ендодантична терапія, виявлення та лікування захворювань зубів, ясен; взаємодія типу «лазер – біологічна тканина» застосовується для точного фокусування когерентних променів у конкретних точках твердої зубної емалі та кістки без пошкодження оточуючих тканин з метою видалення інфікованої тканини та підготовки зубів до встановлення пломб або коронок; хірургія ясен, стерилізація стінок каналів, лікування виразок порожнини рота та відбілювання зубів [10 – 12];

- дерматологія – лікування атрофії шкіри, потовщення шкіри, варикозного розширення вен, судинних уражень, видалення небажаного волосся, вікових плям, хірургічних шрамів та шрамів від вугрів, пігментних уражень [13 – 17];

- гастроентерологія – використання ендоскопів для діагностики нижнього та верхнього шлунково-кишкового тракту з метою виявлення аномалій; використання лазерів для руйнування раку стравоходу та шлунку, фотокоагуляція виразок [18 – 23];

- онкологія – рання неінвазивна діагностика раку *in vivo* за допомогою різноманітних оптичних методів для діагностики тканин, лікування раку з використанням фотодинамічної терапії, виявлення границь та геометрії пухлин та інше [24 – 26];

- офтальмологія – хірургія сітківки (лікування катаракти, глаукоми та вікової макулярної дегенерації), рефракторна хірургія рогівки, візуалізація шару нервових волокон сітківки та виявлення змін в анатомії та фізіології ока [27 – 31];

- нейрофотоніка/оптогенетика – використання світла для активації або пригнічення сигналів між нейронами для вивчення зв'язку між роботою нейронної мережі та поведінковими або сенсорними функціями для лікування нейро-психіатричних захворювань [32 – 34];

- фотобіомодуляція – стимуляція біологічних тканин для полегшення гострої та хронічної болі, лікування розтягнень і наслідків спортивних травм, прискорення загоєння, лікування нервових травм [35 – 38].

Таким чином, розмаїття сфер застосування методів біофотоніки для вирішення складних біологічних та медичних задач на основі дослідження оптичних властивостей біологічних середовищ показує широку перспективу для їх вдосконалення, зокрема для підвищення точності та достовірності оптичної біомедичної діагностики, а також функціональності та ефективності клінічних процедур.

1.2 Поширення світла в біологічних середовищах

Внаслідок того, що структури, з яких складаються БС та біологічні тканини (БТ), є багатокомпонентними, неоднорідними та в більшості випадків багатопаровими, опис поширення оптичного випромінювання в них є складним мультирівневим процесом з багатьма невідомими. Основу взаємодії світла з БС складають процеси відбиття, заломлення, поглинання та множинного розсіювання. Перші два процеси в значній мірі підпорядковані законам геометричної оптики і характеризують взаємодію з межами поділу. Поглинання є визначальним для глибини проникнення випромінювання в товщу досліджуваного БС і залежить від довжини хвилі. Розсіювання світла змінює просторові та спектральні властивості випромінювання і лежить в основі більшості методів біофотоніки. Взаємодія світла з БС може проявлятися у вигляді різних механізмів фізичного впливу, зокрема фотохімічної взаємодії, фотобіомодуляції, термічного стимулювання, фотоабляції, індукованої плазмою абляції, фотодеструкції. До ключових явищ, що використовують для біомедичного оптичного аналізу БС відносять інтерференцію (формування спеклів) та флуоресценцію.

Як показано на рис. 1.1, основні ефекти поширення світла в БС включають відбиття від поверхні, заломлення, поглинання та багатократне розсіювання. У зв'язку з тим, що різні компоненти біологічного середовища мають різні оптичні властивості, то впродовж певного шляху поширення всередині БС світлові промені (фотони) зазнають окремого або поєднаного впливу різних фізичних параметрів (наприклад, показника заломлення, коефіцієнту поглинання або коефіцієнту розсіювання). Це може призводити до плинних або різких змін на границях тканин або структур, наприклад, на межі між м'якою біологічною тканиною та органами або кістковою тканиною. Розглянемо особливості проявів окремих процесів, що супроводжують поширення оптичного випромінювання в біологічних середовищах.

1.2.1 Заломлення світла

Методи оптичної біомедичної діагностики, що базуються на рефракції, переважно застосовуються в офтальмології для дослідження властивостей прозорих тканин (рогівки, передньої камери, скловидного тіла, кришталика), зокрема їх показників заломлення. На рис. 1.2 схематично показані основні складові ока людини.

Біологічні середовища різних компонентів ока людини, без функціональних відхилень або фізіологічно змінених в залежності від форми меж поділу та показників заломлення, фокусують зображення об'єктів на сітківці. Найбільшу різницю показників заломлення у цьому випадку можна спостерігати на межі «повітря – рогівка», тому саме рогівку вважають основним середовищем ока, що завдяки великому

радіусу кривизни в центральній частині формує зорове сприйняття людини.

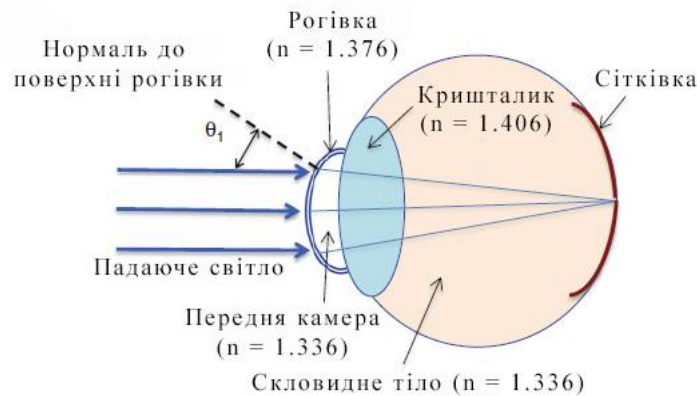


Рис. 1.2 Основні компоненти ока людини та їх показники заломлення [1]

Кришталіку властивий градієнт показника заломлення від центра до країв та динамічне формоутворення для фокусування на об'єктах, що знаходяться на різних відстанях. Клінічні процедури по корекції показника заломлення зазвичай здійснюють з використанням ексимерних лазерів, при цьому форма рогівки змінюється суттєво (наприклад, при кератоконусі [39]), заміни кришталіка (наприклад, при хірургії катаракти [40]), а також при лікуванні загальних зорових розладів (наприклад, короткозорості, далекозорості та астигматизму [41]).

1.2.2 Відбиття від межі поділу

Як і у випадку поверхонь об'єктів різної природи, при взаємодії світла з поверхнями БС може виникати дзеркальне та/або дифузне відбиття, характер та частка якого залежить від текстури поверхні. З огляду на природні властивості БС та БТ дзеркальне (колімоване) відбиття є наслідком малості поверхневих дефектів (шорсткості) у порівнянні з довжиною хвилі падаючого світла. Часто, при дослідженні зрізів БТ [42] або гомогенізованих БС [43], їх розміщують між скляними пластинами або в розчині для вирівнювання меж поділу і чіткого розмежування колімованої та дифузної складової. При цьому загальна енергія відбитих та заломлених пучків зберігається, якщо світло не зазнає поглинання або розсіяння в процесі поширення всередині БС. Також при використанні методів оптичного дослідження, що базуються на явищі дзеркального відбиття, слід враховувати поляризацію падаючого пучка променів [44, 45]. Кут падіння на поверхню БС визначає частку (коефіцієнти Френеля) дзеркально-відбитого світла як s-поляризації, так і р-поляризації. Важливим при дослідженні показника заломлення біологічних середовищ є явище повного внутрішнього відбиття, яке використовують у низці рефрактометричних методів [46, 47].

Дифузне відбиття від поверхні виникає внаслідок наявних мікро-нерівностей, що спів-мірні або перевищують довжину хвилі падаючого світла, і призводить до його розсіювання в усіх напрямках (рис. 1.3).

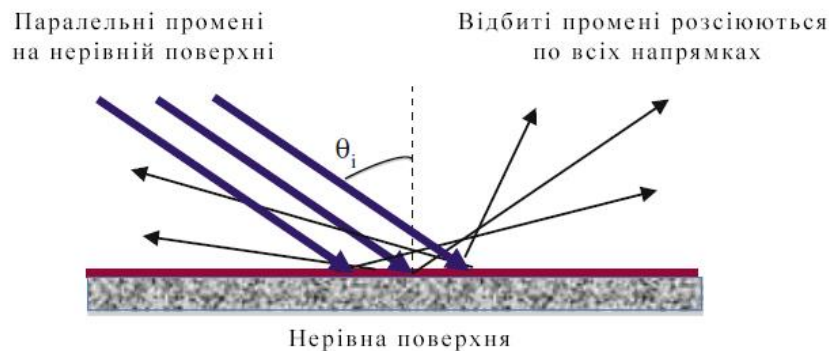


Рис. 1.3 Дифузне відбиття від нерівної поверхні [1]: θ_i – кут падіння

При *in vivo* дослідженнях переважно мають справу з негладкими поверхнями, тому діагностичну цінність у такому випадку представляє дифузна складова. З точки зору модельної інтерпретації відбиття світла від такої поверхні враховують розмір мікро-нерівностей, а промінь світла, що на неї потрапляє, підпорядкований закону дзеркального відбиття або заломлення в залежності від кута падіння та типу БС. При дослідженні оптично мутних або випадково-неоднорідних багатокомпонентних БС, слід враховувати, що до їх складу входять, наприклад, ядра, органели, колаген та інш.. що розсіюють світло нерівномірно в усіх напрямках. Тому, з урахуванням шорсткої поверхні (поверхонь шарів досліджуваного БС), використовують термін дифузно-розсіяне світло. Таке дифузно-розсіяне в прямому та/або зворотному напрямку світло може бути використане для зондування і отримання зображень просторових варіацій оптичних властивостей БС. Дифузно-розсіяне світло лежить в основі спектроскопії пружного розсіювання (спектроскопія дифузного відбиття) [48 – 50], яка є неінвазивною методикою візуалізації для виявлення змін фізичних властивостей клітин у БТ. При падінні пучка фотонів на зразок БС, що дифузно розсіює світло, дифузне відбиття визначають як ослаблення фотонів на одиницю поверхні. Найбільш точними математичними методами, що дозволяють визначати дифузне відбиття є моделювання Монте-Карло та дифузійна теорія (див. п. 1.4).

1.2.3 Поглинання світла

Структурними елементами, що відповідають за поглинання світла в БС є його молекули. Поглинання здійснюється, коли енергія фотонів дорівнює інтервалу між квантовими рівнями механічної енергії молекул. У БС основними атомами є хімічні елементи водню, вуглецю, азоту, кисню та сірки [1]. Проникнення світла через межу поділу в середину БС призводить до взаємодії ЕМ поля фотону та молекули, при цьому частина енергії фотона перетворюється в тепло або призводить до збільшення

молекулярних коливань у середовищі. Результатом цього є поглинання, рівень якого визначають електронною структурою атомів і молекул, довжиною хвилі падаючого світла, товщиною і температурою поглинаючого шару.

Поглинання світла визначається поперечним перетином поглинання σ_a , що характеризує поглинальну здатність об'єкту. Цей параметр встановлює зв'язок між інтенсивністю $I_0 = P_0 / S$ світлового пучка потужністю P_0 , що падає на об'єкт з площею поперечного перетину S , та кількістю поглинутої потужності P_{abs} . Таким чином, поперечний перетин поглинання має одиницю виміру площі і визначається, як

$$\sigma_a = \frac{P_{abs}}{I_0} = \frac{P_{abs}}{P_0 / S}. \quad (1.1)$$

Більш затребуваним в оптиці біологічних середовищ вважають коефіцієнт поглинання μ_a , який вимірюється в $см^{-1}$ або $мм^{-1}$. Для БС, що має рівномірний розподіл однакових поглинаючих центрів з густиною ρ , коефіцієнт поглинання пов'язаний з поперечним перетином поглинання (1.1) через наступний вираз:

$$\mu_a = \rho \sigma_a. \quad (1.2)$$

Іншими словами, коефіцієнт поглинання (1.2) визначає ймовірність поглинання фотону в середині БС на одиницю довжини.

Для колімованого світла також справедлива залежність від довжини, на яку світло проникає в БС, у відповідності до закону Бугера-Ламберта-Бера (Бера-Ламберта):

$$I_a(d) = (1 - R) I_0 \exp(-\mu_a d), \quad (1.3)$$

де $I_a(d)$ - інтенсивність на відстані d в БС; I_0 - інтенсивність падаючого світла; μ_a - коефіцієнт поглинання; R - коефіцієнт відбиття Френеля на поверхні тканини при нормальному падінні променів.

У більшості випадків коефіцієнт поглинання залежить від довжини хвилі. Якщо у досліджуваному БС присутні N різних типів поглинаючих молекул, а молярна концентрація і коефіцієнт молярного поглинання (коефіцієнт молярної екстинкції) n -го молекулярного типу буде c_n (вимірюється в моль/л) та $\varepsilon_n(\lambda)$ (вимірюється в $(\text{моль/л})^{-1} \text{см}^{-1}$) відповідно, то коефіцієнт поглинання визначають, як:

$$\mu_a = \sum_{n=1}^N c_n \varepsilon_n(\lambda). \quad (1.4)$$

Коефіцієнт молярного поглинання (1.4) кожного компонента залежить від довжини хвилі і є мірою того, наскільки сильно n -й молекулярний тип поглинає світло певного спектрального складу.

Для опису поглинання також використовують параметр оптичної щільності $D(\lambda)$, що також залежить від довжини хвилі. З урахуванням виразів (1.3) та (1.4) оптичну щільність на відстані d визначають, як:

$$D(\lambda) = \ln\left(\frac{I_o}{I_a(d)}\right) = \sum_{n=1}^N c_n \varepsilon_n(\lambda) d. \quad (1.5)$$

Чим більша оптична щільність БС, тим більша частина оптичної потужності втрачається. Зворотний до коефіцієнту поглинання коефіцієнт називається глибиною проникнення або довжиною поглинання l_a :

$$l_a = 1/\mu_a. \quad (1.6)$$

Глибина проникнення характеризує довжину d , для якої інтенсивність зменшилася в $1/e$ разів від її початкового значення.

Поглинання в БС обумовлене в основному молекулами води та макромолекулами, такими як білки та хромофор. Хромофор є частиною органічної молекули, яка поглинає світло на певних довжинах хвиль і пропускає або відбиває випромінювання інших довжин хвиль. Як видно з рис. 1.4.а, вода є головною поглинаючою речовиною в ультрафіолетовій та інфрачервоній області. Оскільки вода є основною складовою більшості БС та БТ, властивості її поглинання мають визначальне значення при взаємодії зі світлом.

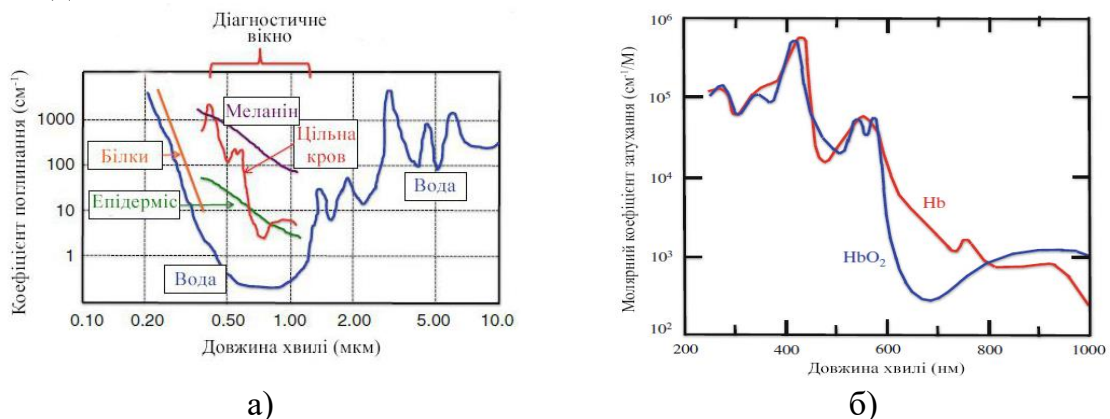


Рис. 1.4 Поглинання світла в біологічних середовищах [1]:
коефіцієнт поглинання різних БС та БТ (а); коефіцієнт молярної екстинкції
оксигемоглобіну та дезоксигемоглобіну (б)

У видимій та УФ областях спектру суттєвими поглиначами є ароматичні амінокислоти (такі як триптофан, тирозин і фенілаланін), білки, меланіни, ДНК і порфірини (які включають гемоглобін, міоглобін, вітамін В12 та цитохром). Ароматичні амінокислоти мають значні поглинаючі піки в діапазоні 200 – 230 нм і локальні піки в діапазоні 250 – 280 нм. Білки зазвичай мають пікове значення поглинання приблизно на довжині хвилі 280 нм, що залежить від концентрації амінокислот, таких як триптофан.

Важливими поглинаючими речовинами в БС є також хромофорний меланін та білковий гемоглобін. Меланін відповідає за колір шкіри, волосся та очей. З рис. 1.4.а видно, що коефіцієнт поглинання меланіну монотонно спадає при зміні довжини хвилі від УФ до видимого діапазону. Меланін ефективно поглинає світло і здатен розсіяти 99,9 % поглиненого УФ випромінювання. Через це його діагностика важлива для задач захисту клітин шкіри від сонячної радіації. Гемоглобін є основним білком, який транспортує кисень з легень до органів, а також виконує функції антиоксиданту та регулятора метаболізму заліза. Кожна молекула гемоглобіну всередині еритроциту має чотири залізовмісні гемові групи та один білковий глобін. Атоми кисню легко зв'язуються з атомами заліза, внаслідок чого молекули гемоглобіну транспортують до 97 % кисню в крові. Насиченість крові гемоглобіном характеризує ступінь наповненості гемоглобіну молекулами кисню. Гемоглобін повністю насичений, коли кисень приєднується до всіх чотирьох гемових груп. Гемоглобін, який не пов'язаний з атомами кисню, називається дезоксигемоглобіном і позначається Hb. Коли кисень зв'язується з атомами заліза, результуюча молекула гемоглобіну змінює свою структуру і називається оксигемоглобіном (позначається HbO₂). Ця структурна зміна призводить до зміни спектру поглинання (рис. 1.4.б). Обидві форми гемоглобіну сильно поглинають до 600 нм і мають піки поглинання близько 280 нм, 420 нм, 540 нм і 580 нм, які використовують для аналізу крові. На довжині хвилі 600 нм спектр HbO₂ різко падає майже на два порядки, а потім залишається на доволі низькому рівні на більших довжин хвиль. Поглинання спектру Hb монотонно зменшується зі збільшенням довжини хвилі і перетинає спектр HbO₂ при 800 нм [1].

Коефіцієнти поглинання для різних компонентів БС визначають наскільки глибоко світло може проникнути всередину середовища на певній довжині хвилі, а також кількість поглинутої енергії. Інтегрально ступінь поглинання залежить від типу БС і в багатьох випадках є функцією довжини хвилі. Світло легко поглинається в ультрафіолетовій (< 400 нм) і середній інфрачервоній (> 2 мкм) областях. Таким чином, світло не може глибоко проникати в БС в цих спектральних діапазонах, і через це відбувається невелике затухання через розсіяння. Існує вікно низького поглинання в видимому і ближньому ІЧ спектральних діапазонах, що знаходиться в діапазоні від 400 нм до 2 мкм (за іншими джерелами від 500 нм до приблизно 1.5 мкм) та дозволяє більш глибоко проникати в

середовище. Цей діапазон довжин хвиль називають діагностичним або терапевтичним вікном, оскільки він забезпечує найкращі умови для оптичної діагностики та терапії в живому організмі. Аналізуючи коефіцієнти поглинання меланіну, цільної крові та епідермісу (рис. 1.4.а) можна відзначити їх більші абсолютні значення в порівнянні з водою. Проте, оскільки їх концентрація в порівнянні з водою значно менша, то в терапевтичному вікні вони обумовлюють невелику кількість поглинання. Характеристики поглинання світла БС для спектральних діапазонів поза терапевтичним вікном важливі для реалізації функцій, які залежать від високої оптичної потужності поглинання, таких як різання [51, 52], зварювання [53] та абляція [54] тканин. В інших випадках діагностично цінним вважають врахування розсіювальних властивостей БС.

1.2.4 Розсіюння світла

Розсіюння променів (фотонів) у БС є ще одним істотним фактором, що характеризує взаємодію оптичного випромінювання з середовищем. Однократне розсіюння є наслідком надтонкого зразка досліджуваного середовища, що мало впливає на просторовий розподіл пропущеного або відбитого світла, і, переважно, характеризує колімовану складову, підпорядковуючись закону Бугера-Ламберта-Бера (1.3). У свою чергу, багатократне розсіюння та поглинання фотонів всередині БС призводить до збільшення частки і просторового розподілу світла. Розсіюння відбувається, коли фотони стикаються з компактним об'єктом, що має відмінний від оточуючого середовища показник заломлення. Розсіюння в БС, на відміну від класичного розсіюння в фізиці, в більшій мірі залежить від структури сполучних тканин, у яких знаходяться розсіювальні центри (РЦ). Оскільки більшість середовищ та тканин людського організму є гетерогенними речовинами, яким властива суттєва просторова варіація оптичних властивостей, їх вважають оптично непрозорими матеріалами. Частіше їх називають мутними (оптично мутними) біологічними середовищами.

Розсіюння світла в БС залежить від довжини хвилі падаючого світла, а також від розмірів, структури та показників заломлення компонентів середовища, які відповідають за розсіюння, наприклад, клітинні мембрани, колагенові волокна та органели [55]. Процес розсіюння домінує над поглинанням у спектральному діапазоні 600 – 1600 нм, тобто у діагностичному вікні. Тому дослідження ефектів світлорозсіюння в прямому та зворотному напрямках є основою багатьох діагностичних і терапевтичних методів та засобів біофотоніки. У діагностичних цілях, таких як візуалізація, індуковані захворюваннями зміни в тканинах можуть впливати на властивості розсіюння, що дає діагностичні показники для ідентифікації здорових та хворих тканин. У терапевтичних цілях дані про розсіюння фотонів корисні для таких функцій, як визначення рівнів дозування та оцінки прогресу під час сеансу малоінвазивної терапії.

Елементи розсіяння містяться в чотирьох основних типах тканин, якими є: тканини епітелію (шар клітин, який оточує поверхню або є лінією розмежування порожнини всередині тіла), сполучної, нервової та м'язової тканини. Органи в тілі складаються з пошарового поєднання цих основних тканин.

У процесі розсіяння світло взаємодіє з тканинними компонентами таким чином, що деякі фотони зі світлового пучка змінюють свій початковий напрямок і перенаправляються в різні боки. Як правило, у залежності від довжини хвилі, світло може проникати до глибини декількох сантиметрів у тканину. Однак сильне розсіяння є причиною неможливості отримання чіткого уявлення про тканинні характеристики на глибині навіть в декілька міліметрів.

Як зазначено у роботі [1], розміри елементів розсіяння в біологічних тканинах коливаються від приблизно 0,01 до 20 мкм (рис. 1.5), що відповідає структурним елементам починаючи від клітинних мембран і закінчуючи цілими клітинами.

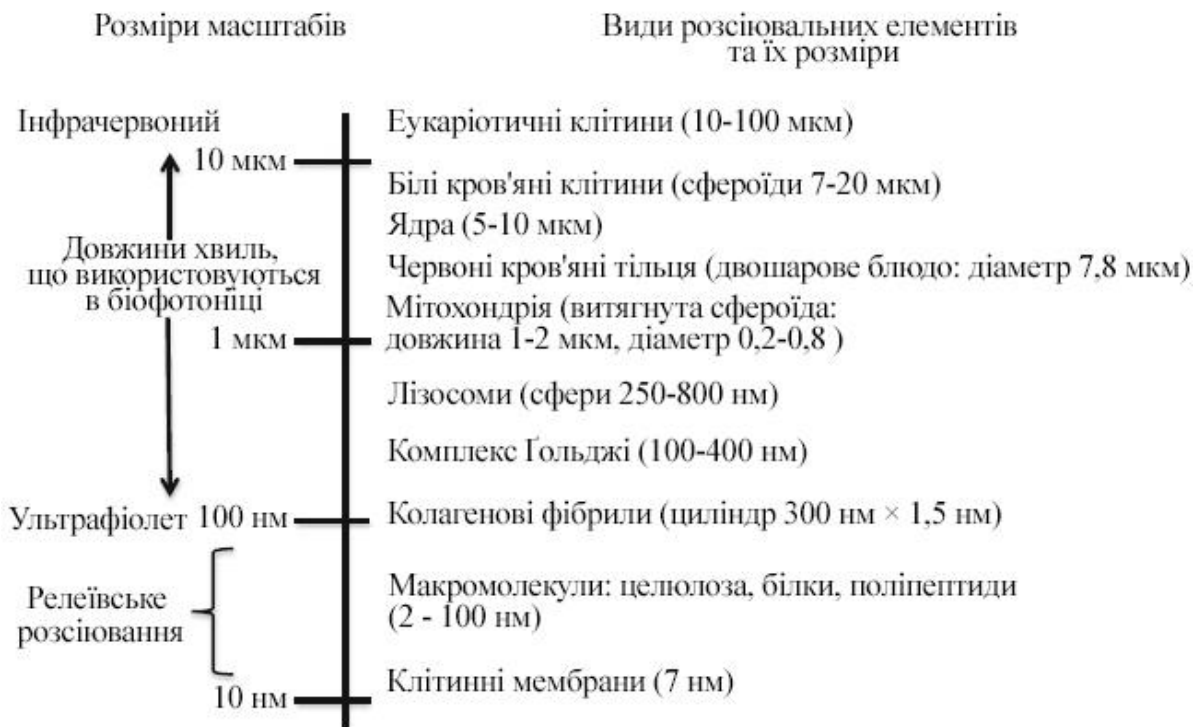


Рис. 1.5 Розміри елементів розсіяння в біологічному середовищі [1]

Розміри еукаріотів в цілому складають 10 мкм і вище. Наприклад, червоні кров'яні клітини мають форму двошарового диска діаметром 7.8 мкм та товщиною 2.6 мкм, білими кров'яними клітинами є сфероїди діаметром від 7 до 20 мкм, а тромбоцити – сплюснутими сфероїдами, у яких приблизно 3.6 мкм діаметр і 0.9 мкм товщина. Фотони найсильніше розсіюються частинками, розмір яких приблизно дорівнює довжині хвилі, а показник заломлення наближений до показника заломлення речовини, у якій знаходиться частинка. Таким чином, основними сильно розсіювальними елементами в клітині можна вважати клітинні ядра та

мітохондрії. Середній показник заломлення біологічної тканини становить від $n=1,34$ до $n=1,62$, що вище, ніж $n=1,33$ води. У таблиці 1.1 наведено показники заломлення деяких поширених компонентів БС.

Таблиця 1.1

Показники заломлення компонентів БС [1]

Тканинний компонент	Показник заломлення
Цитоплазма	1.350 - 1.375
Епідерміс	1.34 - 1.43
Позаклітинні рідини	1.35 - 1.36
Печінка людини	1.367 - 1.380
Меланін	1.60 - 1.70
Мітохондрія	1.38 - 1.41
Зубна емаль	1.62 - 1.73
Цільна кров	1.355 - 1.398

Розсіяння фотонів може бути або пружним або непружним. У випадку пружного розсіяння фотони мають однакову енергію, а відтак довжина хвилі розсіяного світла не змінюється. Розсіяння Релея [56] характеризує пружне розсіяння. Ефекти пружного розсіяння використовуються у багатьох біомедичних методах, таких як оптична когерентна томографія [57 – 59], конфокальна мікроскопія [60, 61] та спектроскопія пружного розсіяння [62, 63].

Непружне розсіяння відбувається при значно нижчій ймовірності самого акту розсіяння ніж пружне і передбачає обмін енергією між фотоном і розсіювальним центром. Раманівське розсіяння є основним типом непружного розсіяння, що використовують в біофотоніці. Цей процес є основою для таких процедур, як комбінована вібраційна спектроскопія та комбінаційне Раманівське розсіяння на поверхні (SERS) [64 – 66]. Раманівське розсіяння є одним з найбільш точних методів дослідження структур та динамічних функцій біологічних молекул, діагностики та контролю прогресу захворювань (етіологія катаракти, передракових та ракових уражень м'яких тканин людини, атеросклеротичних уражень коронарних артерій, кісткових та стоматологічних патологій тощо).

Надалі для опису характеристик та типів розсіяння скористаємось структурою роботи [1], яка є вдалим та лаконічним літературним аналізом основ біофотоніки. В основі математичного аналізу **пружного розсіяння** світла лежить теорія розсіяння Мі (Лоренца-Мі-Дебая) [67 – 69], що описує розсіяння на сферичній частинці довільного розміру. При цьому, не зважаючи на суттєві відмінності від сферичної форми реальних РЦ в біологічному середовищі, характер розсіяння на них може бути вдало інтерпретований за умови порівнюваності розмірів частинок та їх показників заломлення. Розсіяння Мі має важливе значення при

дослідженні клітин крові, які мають розміри від 2.5 до 20 мкм [55]. Якщо розміри РЦ набагато менші (менші за ~ 100 нм), ніж довжина хвилі падаючого світла, то використовують більш просту теорію розсіяння Релея. Аналогічно поглинанню, кількісною характеристикою розсіяння є його перетин σ_s , що характеризує розсіювальну здатність об'єкту. Перетин розсіяння встановлює залежність між інтенсивністю $I_0 = P_0 / S$ світлового променя потужністю P_0 , що падає на об'єкт з площею поперечного перетину s , та кількістю розсіяної енергії P_{scatt} . Таким чином, поперечний перетин розсіяння визначають, як:

$$\sigma_s = \frac{P_{scatt}}{I_0}. \quad (1.7)$$

Перетин розсіяння (1.7) описує область, яку об'єкт розсіяння виділяє з поперечного перетину падаючого пучка світла під час процесу відхилення величини розсіяної потужності P_{scatt} від пучка. Перетин розсіяння не вважається проекцією геометричної області об'єкта, тому що різні об'єкти з однаковим розміром можуть мати різні сегменти розсіяння.

Як і у випадку поглинання, нерозсіяну компоненту падаючої інтенсивності у результаті проникнення крізь розсіювальне БС товщиною d можна описати законом Бера-Ламберта:

$$I_s(x) = I_0 \exp(-\mu_s d), \quad (1.8)$$

де μ_s - коефіцієнт розсіяння середовища, вимірюється в $см^{-1}$ або $мм^{-1}$ і визначає ймовірність розсіяння фотону на одиницю довжини шляху. У БС, що має рівномірний розподіл однакових РЦ густиною ρ , коефіцієнт розсіяння становить:

$$\mu_s = \rho \sigma_s. \quad (1.9)$$

Обернений до μ_s коефіцієнт називають середнім вільним пробігом l_s :

$$l_s = 1 / \mu_s \quad (1.10)$$

Формула (1.10) визначає середню відстань, на яку фотон переміщується між актами розсіяння.

На рис. 1.6 представлені значення коефіцієнтів розсіяння деяких біологічних середовищ. Як видно з рис. 1.6.a [70] в ближньому ІЧ спектральному діапазоні коефіцієнти розсіяння тканини простати ураженої раком та у нормі різняться на 30 % на всьому досліджуваному діапазоні, причому абсолютні значення нормальної тканини вищі.

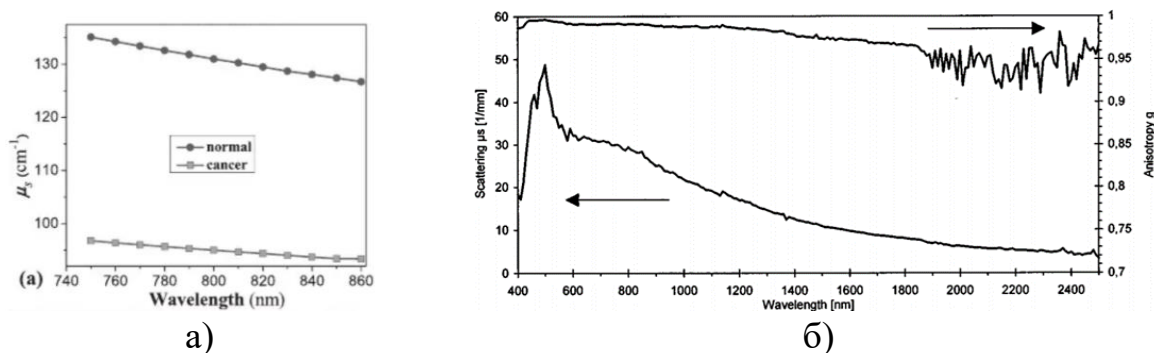


Рис. 1.6 Розсіяння світла в біологічних середовищах:

залежність коефіцієнту розсіяння для тканини простати в нормі та ураженої раком в залежності від довжини хвилі (а) [70]; спектральна залежність коефіцієнту розсіяння та фактору анізотропії розсіяння для насиченої киснем ізотонічної крові з показником гематокриту 55 % [71]

Як можна побачити на рис. 1.6.б та за матеріалами роботи [71] в широкому спектральному діапазоні відмінності в коефіцієнті розсіяння та факторі анізотропії розсіяння в залежності від ступеню насичення крові киснем малопомітні, а важливу роль при цьому продовжує відігравати коефіцієнт поглинання. Проте сама спектральна залежність коефіцієнту розсіяння простежується чітко. Величина μ_s має чіткий максимум при довжині хвилі 500 нм, який в межах 25 % знижується до довжини хвилі 800 нм, а потім практично рівномірно спадає до довжини хвилі 2500 нм до рівня 10 % від максимуму. Зменшення μ_s зі збільшенням довжини хвилі пов'язане зі зменшенням перетину розсіяння σ_s у відповідності з теорією Мі.

Прикладене дослідження характеру розсіяння фотонів в різноманітних БС та БТ показали, що вони переважно зосереджені в прямому напрямку. Тому на практиці доцільно визначити функцію ймовірності $p(\theta)$ для прогнозування напрямку розсіяння фотона під кутом θ (рис. 1.7). Якщо $p(\theta)$ не залежить від θ , то розсіяння є ізотропним (однакова інтенсивність в усіх напрямках). Якщо $p(\theta)$ залежить від θ , то розсіяння є анізотропним (має різні значення в різних напрямках). Анізотропія є мірою кількості розсіяних фотонів, що продовжують рух у початковому напрямку після одного акту розсіяння.

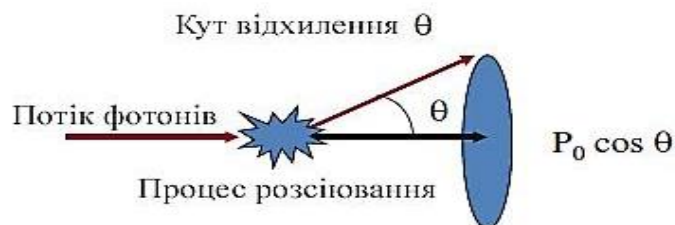


Рис. 1.7 Кутове відхилення розсіяного променя [1]

Загальноприйнятою апроксимацією функції ймовірності (фазової функції) розсіювання $p(\theta)$, що добре узгоджена з експериментальними даними, є функція Хені-Грінштайна [72, 73]:

$$p(\theta) = \frac{1 - g^2}{(1 + g^2 - 2g \cos \theta)^{3/2}}. \quad (1.11)$$

Коефіцієнт g у виразі (1.11) є середнім косинусом кута розсіювання θ і називається фактором анізотропії розсіювання або фактором анізотропії тканини (середовища). Значення g змінюється від -1 до +1; $g = -1$ означає розсіювання назад, $g = 0$ означає ізотропне розсіювання, а $g = +1$ означає загальне розсіювання вперед, яке описує розсіювання Мі для великих часток.

Інші фазові функції розсіювання, що використовують в методах біофотоніки для опису просторового характеру розсіювання, проаналізовані у роботі [74].

Як видно з рис. 1.6.б, фактор анізотропії ізотонічної крові є вищим за 0.98 в діапазоні довжин хвиль 400 – 1400 нм з максимальним значення більше 0.99 в діапазоні від 400 до 600 нм. При значеннях довжин хвиль вище 1400 нм в межах ближньої ІЧ області фактор анізотропії знижується до величини 0.95. Присутність флуктуацій фактору g в діапазоні вище 1800 нм автори [71] пов'язали з малими значеннями вимірюваних за допомогою інтегруючих сфер величин дифузно-відбитого світла, що в цьому діапазоні не перевищували частки в 0.1 %. Ці результати мали добру відтворюваність при дослідженні різних зразків крові в широкому спектральному діапазоні, що підтверджує біометричну цінність величин коефіцієнтів розсіювання та фактору анізотропії розсіювання БС.

У випадку малої величини (1.10) у випадку коли на кожному РЦ відбувається ізотропне розсіювання, використовують транспортний коефіцієнт розсіювання μ'_s :

$$\mu'_s = \mu_s(1 - g). \quad (1.12)$$

На практиці, при визначенні фактору анізотропії розсіювання шляхом прямих вимірювань інтенсивності розсіяного по кутам відхилення θ , необхідно забезпечити настільки тонку товщину досліджуваного зразка БС, аби кількість актів розсіювання буда один-два. Тому існують численні методи визначення величини фактору анізотропії однократного розсіювання, що входить у фазову функцію (1.11), на підставі експерименту на товщинних зразках [74, 75]. При цьому інформативною вважають вже не фазову функцію розсіювання, а її індикатрису, як характеристику багатократного розсіювання.

Основним типом **непружного розсіювання** є комбінаційне розсіювання (Раманівське розсіювання) фотонів при взаємодії з молекулами. Непружне

розсіяння використовують в комбінаційній спектроскопії (Раман спектроскопії) та вважають додатковим до методів інфрачервоної абсорбційної спектроскопії [76] при отриманні інформації про молекулярні композиції, структури та взаємодію у зразках БТ. Ефект прямого поглинання фотону під час процесу інфрачервоного поглинання призводить до збудження молекули до рівня вищих коливальних станів. У цьому випадку при взаємодії фотона з молекулою можуть відбутися дві реакції: невелика кількість енергії може передатися фотоном в молекулу, або молекула може передати енергію в фотон. Перший процес називають розсіянням Стокса, а другий – антистоксовим розсіянням [64 – 66].

1.2.5 Розсіяння та поглинання світла

Якщо порівняти абсолютні величини коефіцієнтів розсіяння та поглинання реальних БС і БТ, то окремі з них можна віднести до сильно розсіювальних, а інші – до сильно поглинаючих середовищ на окремих довжинах хвиль. Проте важко знайти БС, у якому був би відсутній один з процесів. Тому для опису реальних мутних БС використовують об'єднуючий коефіцієнт екстинкції μ_t , що виражає показник швидкості затухання світлової хвилі в середовищі, характеризує ймовірність взаємодії фотонів з середовищем на нескінченно малих ділянках і може бути визначений, як:

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s. \quad (1.13)$$

З урахуванням (1.13) вводять поняття вільної довжини перебігу фотону без взаємодії:

$$l_{ph} = \frac{1}{\mu_t} = \frac{1}{\mu_a + \mu_s}. \quad (1.14)$$

Ще одним параметром, що характеризує взаємодію світла з БС, у якому присутні і розсіювальні, і поглинальні центри, є оптичне альbedo Λ , що визначають, як:

$$\Lambda = \frac{\mu_s}{\mu_t} = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s}. \quad (1.15)$$

Суто математично, для затухання, яке виникає виключно за рахунок поглинання $\Lambda=0$, тоді як $\Lambda=1$, коли відбувається лише розсіяння. Для випадку $\Lambda=0.5$ коефіцієнти поглинання та розсіяння мають однакову величину, тобто $\mu_a = \mu_s$.

Таким чином, взаємодія оптичного випромінювання з біологічним середовищем може бути описана низкою параметрів, що характеризують

внутрішню оптичну структур досліджуваного БС. До таких параметрів відносять коефіцієнти розсіяння μ_s та поглинання μ_a , фактор анізотропії g та показник заломлення n . Інші параметри, наведені у п. 1.2, є похідними від зазначених характеристик, які також називають оптичними властивостями БС або їх біофотометричним базисом.

Далі розглянемо основні методи та засоби, що дозволяють досліджувати і визначати оптичні властивості БС.

1.3 Особливості теорії переносу випромінювання в методах біофотоніки

Оптичні властивості БС є описом «внутрішньої» природи об'єкту і тому вважаються ймовірнісними. Практично їх не можливо виміряти, а обчислення ведеться різноманітними аналітичними методами.

Загальною теорією, що найчастіше використовують в оптиці біологічних середовищ, є теорія переносу випромінювання (ТПВ). На відміну від аналітичної теорії [77, 78], що виходить з електромагнітної теорії та диференційних рівнянь Максвелла і має обмежене застосування при умові багатократного розсіяння, ТПВ характеризує перенос енергії в середовищі, що містить частинки. При цьому не розглядається можлива кореляція між полями, що властиво практичним вирішенням в ЕМ теорії, а оперують інтенсивністю [56]. Числовими методами, що застосовують в ЕМ теорії поля в задачах біофотометрії, є методи дискретизації, зокрема метод кінцевих елементів [79] і метод кінцевих різниць у часовій області [80]. Метод кінцевих елементів використовують для розрахунку задач електростатики, магнітостатики та квазістаціонарних явищ [81]. Метод кінцевих різниць у часовій області був розроблений спеціально для вирішення рівнянь Максвелла, у яких зміна електричного і магнітного полів в часі залежить від їх зміни у просторі. У рамках цього методу область простору і часовий інтервал піддаються рівномірній дискретизації з заданням початкових умов [82]. Іншою групою методів в ЕМ теорії є проєкційні, у яких рішення проєктують на будь-який зручний функціональний базис. Проте широко розповсюдження в біомедичній оптиці вони не набули.

ТПВ справедлива для немодульованого світла в розсіювальному середовищі або для набору віддалених один від одного розсіювачів. Вона не враховує хвильові властивості світла, такі як когерентність, дифракційні та інтерференційні ефекти, а також явище поляризації [83]. Більшості БС властиве багатократне розсіяння, тому врахування взаємодії хвиль розсіяного світла між сусідніми розсіювачами важливо. Через ефекти розсіяння та поглинання світла більшість БС вважаються мутними, що суттєво ускладнює моделювання поширення світла в них. Особливо це проявляється при розгляді БС, що залягають на глибині більше 1 см під поверхнею. Взагалі, складною задачею є візуалізація глибоких тканинних

структур з роздільною здатністю, що порівнювана з розміром клітин. Це може бути пояснене багатократним розсіянням, що змінює траєкторію світла і суттєво розмиває «зображення». Тому в більшості прикладних задач біофотоніки використовують саме теорію переносу випромінювання, оскільки вона, поміж визначення оптичних властивостей, дозволяє «відстежувати» траєкторію руху фотонів, що підвищує достовірність візуалізації.

Теорію переносу випромінювання прийнято описувати основним рівнянням ТПВ [56, 83], яке характеризує зміни світлового потоку як взаємозв'язок падаючих, поглинутих, пропущених та пере-випромінених фотонів в елементарному об'ємі dV в межах тілесного кута $d\omega$ вздовж напрямку \hat{s} (рис. 1.8) і розглядає процеси поширення світла з огляду на збереження енергії.

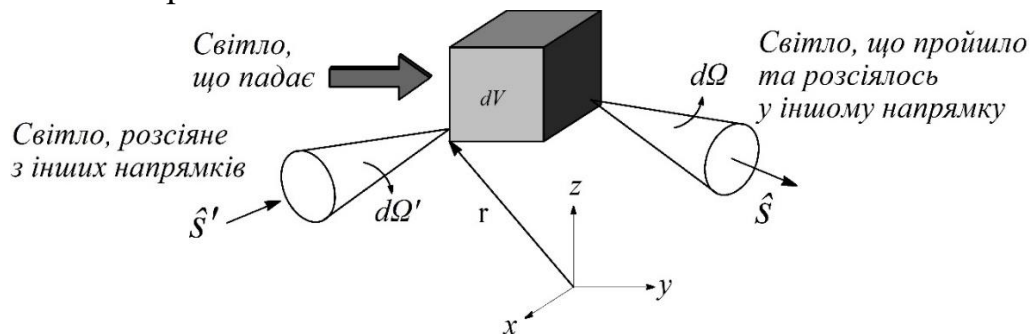


Рис. 1.8 Схема поширення світла для ТПВ [83]

Загальна зміна потужності в одиничному об'ємі та одиничному тілесному куті може бути виражена, як [56, 83]:

$$\delta P_T = \frac{\partial \left(\frac{L(r, \hat{s}, \tau)}{c} \right)}{\partial \tau} d\Omega dV, \quad (1.16)$$

де $L(r, \hat{s}, \tau)$ - яскравість, тобто потік світла через одиницю площі в одиничному тілесному куті за одиницю часу, що вимірюється у $\text{Вт} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{стеррад}^{-1}$.

Тоді у відповідності з (1.16) та законом збереження енергії зміну потужності в цьому об'ємі визначають виразом:

$$\delta P_T = -\delta P_{div} - \delta P_t + \delta P_s + \delta P_{source}, \quad (1.17)$$

де $\delta P_{div}, \delta P_t, \delta P_s, \delta P_{source}$ – часткові потужності оптичного випромінювання, що витрачається або акцептуються внаслідок дії одного з механізмів переносу випромінювання та зміни енергії в об'ємі dV , і визначають з виразів (1.18) – (1.21). Від'ємний або додатний знаки в (1.17) вказують відповідно на втрату або виникнення джерела світлової енергії.

Величину δP_{div} , що характеризує відхилення (розходження) випромінювання внаслідок поширення з певного об'єму dV в межах елементарного тілесного кута $d\Omega$ вздовж напрямку \hat{s} , визначають, як [56, 83]:

$$\delta P_{div} = [\hat{s} \cdot \nabla L(r, \hat{s}, \tau)] d\Omega dV. \quad (1.18)$$

Ця складова втрати потужності особливо проявляється для випадку, коли промінь падаючого світла не колімований.

Величину δP_t , що характеризує ослаблення внаслідок поглинання світла всередині об'єму dV та розсіяння з цього об'єму, визначають, як [56, 83]:

$$\delta P_t = [(\mu_a + \mu_s) \cdot L(r, \hat{s}, \tau)] d\Omega dV. \quad (1.19)$$

Величина δP_s характеризує світло, що потрапило на досліджуваний об'єм внаслідок розсіяння з інших напрямків. Щоб оцінити цей внесок, необхідно врахувати ймовірність світла, що поширюється в межах тілесного кута $d\Omega'$ вздовж напрямку \hat{s}' , бути розсіяним у напрямі \hat{s} , яку визначають з наступного виразу [56, 83]:

$$\delta P_s = \left[\mu_s \int_{4\pi} L(r, \hat{s}, \tau) \cdot p(\hat{s}, \hat{s}') d\Omega' \right] d\Omega dV, \quad (1.20)$$

У виразу (1.20) інтеграл за повним тілесним кутом 4π означає включення можливого розсіяного випромінювання з усіх напрямків.

Величину δP_{source} , яка характеризує можливі внутрішні джерела випромінювання, що генеруються в об'ємі dV , наприклад, внаслідок флуоресценції або іншого виду люмінесценції, визначають, як [56, 83]:

$$\delta P_{source} = Q(r, \hat{s}, \tau) d\Omega dV, \quad (1.21)$$

де $Q(r, \hat{s}, \tau)$ - потужність джерела випромінювання в одиниці об'єму у одиничному тілесному куті, що вимірюється у $\text{Вт} \cdot \text{м}^{-3} \cdot \text{стеррад}^{-1}$.

Таким чином, з урахуванням (1.16) – (1.21) можна записати загальну формулу, яка і є основним рівнянням теорії переносу випромінювання (РПВ):

$$\frac{1}{c} \cdot \frac{\partial L(r, \hat{s}, \tau)}{\partial t} = -\hat{s} \cdot \nabla L(r, \hat{s}, \tau) - (\mu_a + \mu_s) \cdot L(r, \hat{s}, \tau) + \mu_s \cdot \int_{4\pi} L(r, \hat{s}, \tau) \cdot p(\hat{s}, \hat{s}') d\Omega' + Q(r, \hat{s}, \tau). \quad (1.22)$$

У задачах біофотоніки останній доданок зазвичай не враховують, так як вважають, що всередині біологічного середовища відсутні джерела випромінювання. Також вважають, що падаючі фотони не взаємодіють один з одним всередині БС, а тому основне рівняння ТПВ (1.22) набуває наступного вигляду, яке називається стаціонарним:

$$\frac{dI(r, \hat{s})}{d\hat{s}} = -\mu_t I(r, \hat{s}) + \frac{\mu_s}{4\pi} \cdot \int_{4\pi} I(r, \hat{s}') p(\hat{s}, \hat{s}') d\omega', \quad (1.23)$$

де $I(r, \hat{s})$ - інтенсивність випромінювання в точці r , що поширюється у напрямку \hat{s} [Вт·см-2/стеррад]; μ_t - коефіцієнт ослаблення; $p(\hat{s}, \hat{s}')$ - фазова функція розсіювання, котра визначає ймовірність того, що фотон, який летить в напрямку \hat{s} , після розсіювання матиме напрямок \hat{s}' ; $d\omega'$ - одиничний тілесний кут в напрямку \hat{s}' .

При цьому ТПВ розглядає окремі фотони в якості точкових джерел, тобто їх поля адитивні, а інтерференційними ефектами нехтують. Рис. 1.9 пояснює інтегрально-диференційне рівняння (1.23).

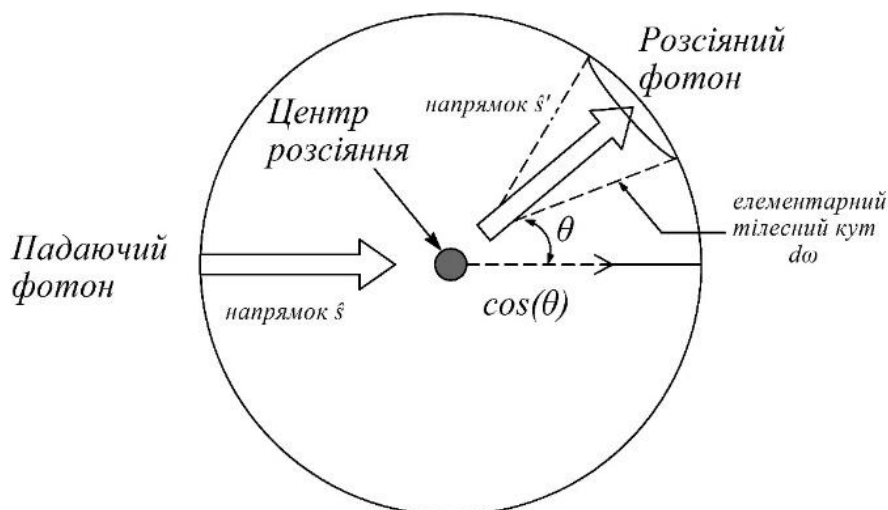


Рис. 1.9 До пояснення інтегрально-диференційного рівняння (1.23) [84]

Отже, у відповідності до теорії переносу випромінювання, основними властивостями оптично-неоднорідних середовищ, до яких відносять і біологічні, є коефіцієнт поглинання μ_a та коефіцієнт розсіювання μ_s , а також середній косинус кута розсіювання, визначений величиною g . У деяких випадках використовують також транспортний коефіцієнт розсіювання $\mu_s' = \mu_s(1 - g)$. Для проведення обчислень також необхідно знати показник заломлення середовища, який для більшості БС близький до 1.4, і залежить, поміж іншого, від ступеню гідратації в широкому діапазоні довжин хвиль, включаючи видимий і ближній ІЧ діапазони, тому в багатьох випадках його можна вважати константою.

1.4 Методи дослідження оптичних властивостей біологічних середовищ в теорії переносу випромінювання

Розв'язок інтегрально-диференційного рівняння (1.23) для опису поширення випромінювання в розсіювальному БС є трудомістким з точки зору обчислень. Існує два підходи для вирішення цієї задачі. При першому підході отримують загальне рішення з невідомими коефіцієнтами, а потім за допомогою граничних умов знаходять ці коефіцієнти. Другий підхід полягає в переході від диференційних рівнянь з заданими граничними умовами до інтегральних рівнянь для деяких невідомих функцій.

Розв'язки рівняння переносу знайдені лише для невеликої кількості часткових випадків, таких як, наприклад, плоско паралельна задача (для скінченної товщини або у випадку напів-нескінченного середовища) або задача з ізотропним розсіянням [56]. На практиці ж у більшості випадків РПВ не вдається розв'язати точно, тому виникає необхідність використовувати деякі наближення. Навіть у тих випадках, коли точний розв'язок відомий, але занадто складний або громіздкий, часто виникає потреба мати простіший наближений розв'язок.

Розглянемо основні аналітичні методи розв'язку РПВ.

Метод сферичних гармонік оперує сферичними функціями, які є функціями оператора Лапласа в сферичній системі координат і застосовується для розв'язку задач зі сферичною симетрією [56, 85, 86]. Метод заснований на розкладанні інтенсивності випромінювання за поліномами Лежандра, які представляють собою повний набір ортогональних функцій в інтервалі зміни шуканої величини. Основними перевагами методу є: можливість отримати інтенсивність випромінювання на усіх рівнях (шарах), а також інтенсивність пропущеного та відбитого світла; відсутність значних затрат часу; можливість застосування як для неоднорідних БС, так і для суперпозиції однорідних шарів БС. Основним недоліком є необхідність суворого обґрунтування порядку наближення або дискретизації системи для забезпечення потрібної точності.

Метод дискретних ординат дозволяє перетворити стаціонарне рівняння переносу (1.23) в матричне диференційне рівняння для освітленості. При цьому здійснюють оцінку кутового розподілу потоку випромінювання вздовж N дискретних напрямків, кількість яких напряму впливає на точність розв'язку. Основними задачами, що виникають при застосуванні цього методу, є вибір конкретних дискретних напрямків та апроксимація інтегралів за кутовою змінною [87]. У N -вимірному наближенні методу дискретних ординат інтеграли замінюють сумами відповідно до квадратурної формули Гауса. Основними перевагами методу є: невеликі затрати машинного часу на обчислення інтенсивності та потоків випромінювання; результати обчислень не залежать від оптичної товщини; можливість отримувати розв'язок РПВ у явному вигляді, а також аналітичні розв'язки для двох та чотирьох потоків. Головним недоліком

методу є немонотонність, що може призводити до осциляцій у розв'язку та появи негативних значень потоку. Ця особливість методу суттєво знижує точність розрахунків у задачах переносу в складних гетерогенних середовищах [87].

Метод спряжених рівнянь застосовується для пошуку деякого інтегралу поля випромінювання із використанням дельта-функції за усіма змінними у якості функції реакції (відгуку) [87]. Головною перевагою цього методу є те, що можна додатково розрахувати потік для всіх дискретних кутів у результаті однократного розв'язку спряженого рівняння.

Проте, зазначені аналітичні вирішення не мають широкого практичного використання в біомедичній оптиці. Тому розглянемо основні методи, що віднайшли застосування в біофотоніці. Зазначимо, що в спеціалізованій літературі ці методи також прийнято називати наближеннями.

Наближення першого порядку справедливе для тонких або слабо-розсіювальних БС. У випадку слабого розсіяння, коли середовище розріджене, а розсіювальний об'єм невеликий, розв'язок РПВ можна одержати ітераційним шляхом у першому наближенні.

Повна інтенсивність випромінювання $I(r, \hat{s})$ в точці r складається з ослабленої падаючої інтенсивності $I_{ri}(r, \hat{s})$ та дифузної інтенсивності $I_d(r, \hat{s})$ (рис. 1.10) [56, 86]:

$$I(r, \hat{s}) = I_{ri}(r, \hat{s}) + I_d(r, \hat{s}). \quad (1.24)$$

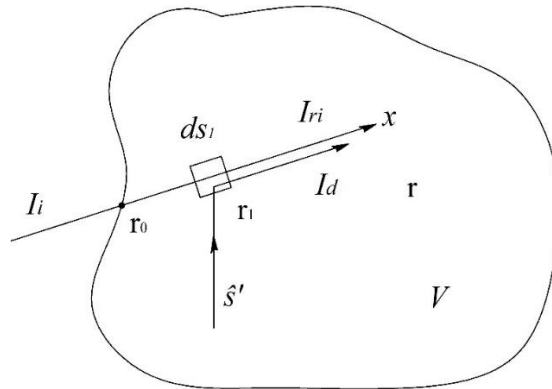


Рис. 1.10 До пояснення наближення першого порядку:
ослаблена падаюча $I_{ri}(r, \hat{s})$ та дифузна $I_d(r, \hat{s})$ інтенсивності [56]

Дане наближення свідчить про те, що повна інтенсивність, яка падає на частинки, наближено дорівнює ослабленій падаючій інтенсивності, яка відома. Тому розв'язок у наближенні першого порядку має вигляд [56]:

$$I_d(r, \hat{s}) = \int_0^s e^{-(d\tau - d\tau_i)} \cdot \left[\frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} I_{ri}(\hat{r}, \hat{s}') p(\hat{r}, \hat{s}') d\hat{\omega}' \right] d\hat{s}', \quad (1.25)$$

де $d\tau$, $d\tau_i$ - оптичні шляхи, що характеризують втрати в середовищі внаслідок поглинання та розсіювання.

Перше наближення корисне з огляду на свою математичну простоту, але воно справедливе лише в тому випадку, коли щільність РЦ настільки мала, що некогерентна потужність значно менше когерентної. Для застосування необхідно щоб виконувалися наступні вимоги: тонкі або слабо-розсіювальні середовища з $d\tau < 1$, $\Lambda \ll 0.5$. У випадку вузького падаючого пучка променів (наприклад, лазерного променя) наближення першого порядку справедливе для більш щільних середовищ ($d\tau > 1$, $\Lambda < 0.9$) [56]. У загальному випадку це наближення використовується коли об'ємна щільність, що дорівнює відношенню об'єму середовища, зайнятого частками, до повного об'єму, значно менше 0,1 %. Якщо об'ємна щільність набагато більша 1 %, то використовують дифузне наближення [3].

Дифузне наближення (дифузійне наближення або наближення Едінгтона) представляє дифузну інтенсивність світла як суму інтегральної інтенсивності випромінювання всередині середовища та світлового потоку дифузного випромінювання. Дифузна теорія справедлива при незначних значеннях фактору анізотропії розсіювання ($g \leq 0.1$) та при великих значеннях альбеда розсіювання $\Lambda < 1$.

Оскільки для багатьох БС фактор анізотропії розсіювання $g \sim 0,6-0,9$, а в деяких випадках, наприклад, для крові може досягнути величини 0,990 - 0,999, то використовувати дифузну теорію неприпустимо, тому її застосування має ряд обмежень. Доведено, що дане наближення можна застосовувати включно до $g < 0.9$ при умові, що оптична товщина об'єкту $d\tau$ складає 10 – 20 [3, 86]. Також, описаний розв'язок справедливий у тому випадку, коли ефекти розсіювання переважають над ефектами поглинання ($\mu_a \ll \mu_s'$), та не використовують у шарах, близьких до поверхні середовища, оскільки там переважає однократне або мало-кратне розсіювання.

Малокутове наближення застосовують у випадку великих РЦ, розміри яких значні порівняно з довжиною хвилі випромінювання, а індикатриса розсіювання відмінна від нуля у вузькому секторі кутів у напрямку поширення вперед. Рівняння переносу випромінювання в кутовому наближенні допускає достатньо точний розв'язок задачі, проте воно є досить громіздким та незручним для розрахунку. Малокутове наближення придатне лише для БС малої товщини, на яких пучок залишається істотно колімованим. Прикладами застосування цього методу

є задачі лазерної діагностики біологічних систем, наприклад, визначення концентрації бактерій у рідині за допомогою лазерного пучка або визначення насичення крові киснем за допомогою оптоволоконного катетера [3, 86].

Потокові наближення використовують для численних задач коли необхідно визначити не саме значення інтенсивності I , а лише інтеграли від I , які дають змогу розрахувати енергетичні характеристики поля випромінювання. У таких випадках прийнятні результати дає застосування поточкових моделей Кубелки-Мунка [88, 89]. Найпростішою з них є двох-потокова модель, яка використовує дифузне випромінювання, що проходить крізь мутне БС. Ця теорія базується на моделі дифузних світлових потоків, що поширюються в прямому та зворотному напрямках. Проте її не можна застосовувати при падінні на БС колімованого пучка.

Для застосування поточкових моделей при колімованому випромінюванні, використовують трьох- чотирьох- або семи-потокову теорію. Чотирьох-потокова модель окрім двох зустрічних дифузних потоків враховує також два колімованих пучки – той, що падає ззовні, та відбитий від задньої поверхні зразка. При практичних розрахунках найчастіше використовують трьох-потокову модель (1.26), яка є спрощеним варіантом чотирьох-потокової і не враховує колімоване випромінювання назад [84]:

$$\begin{aligned}\frac{\partial F_+}{\partial d} &= -\left(2\mu_a + \frac{3}{4}(\mu_a + \mu_s(1-g))\right)F_+(d) + \frac{3}{4}(\mu_a + \mu_s(1-g))F_-(d) + \frac{\mu_s}{4}(2+3g)F_c(d) \\ \frac{\partial F_-}{\partial d} &= -\left(2\mu_a + \frac{3}{4}(\mu_a + \mu_s(1-g))\right)F_-(d) + \frac{3}{4}(\mu_a + \mu_s(1-g))F_+(d) + \frac{\mu_s}{4}(2-3g)F_c(d), \\ \frac{\partial F_c}{\partial d} &= -(\mu_a + \mu_s)F_c(d)\end{aligned}\tag{1.26}$$

де $F_c(z)$ - колімований потік, що пройшов через БС товщиною d ;

$F_+(d)$ - дифузний потік, який пройшов через БС товщиною d ;

$F_-(d)$ - дифузний потік, який відбився від задньої межі БС.

Семи-потокова модель є спрощеним тривимірним представленням падаючого лазерного пучка та розсіянного випромінювання в напів-нескінченному БС.

Численні дослідження виявили ряд недоліків поточкових моделей, зокрема: непридатність для середовищ з високою анізотропією розсіяння, складність врахування меж заломлення, важкість перерахунку параметрів моделі Кубелки-Мунка в стандартні параметри теорії переносу випромінювання [56, 88, 90].

Метод «додавання-подвоєння» відносять до одного з двох найбільш розповсюджених методів в біомедичній оптиці, сутність якого полягає в наступному. Якщо відомі функції відбиття та пропускання для кожного з двох шарів, то можна отримати функції відбиття та пропускання об'єднаного шару, розрахувавши послідовні відбиття в обидва напрямки, які відбуваються між цими шарами. При цьому «подвоєння» означає, що відомі коефіцієнти відбиття та пропускання одного шару можуть бути використані для визначення цих коефіцієнтів для шару удвічі більшої товщини, шляхом накладання один на одного двох ідентичних шарів та складання впливу кожного з шарів на процеси відбиття та пропускання. «Додавання» означає застосування методики «подвоєння» на зразках з різнорідними шарами, що дозволяє моделювати багатошарові БТ та враховувати внутрішнє відбиття за рахунок різкої зміни показника заломлення на межах шарів [91, 92].

Для застосування цього методу приймають наступні припущення: зразок складається з однорідних плоско паралельних шарів кінцевої товщини; шари мають однорідні властивості розсіяння та поглинання; зразки освітлюються однорідним колімованим або дифузним світлом. Основними перевагами методу є його швидкість, можливість покрокової інтерпретації результатів, можливість застосування практично для будь-яких коефіцієнтів розсіяння та поглинання, а також для будь-якої фазової функції. Недоліками є обмеженість застосування методу та неможливість отримання розрахунків розподілу випромінювання всередині досліджуваного середовища, та слабка візуалізуюча здатність. Широко використовуються як прямий, так і інверсний методи «додавання-подвоєння». Причому характеристика та алгоритми інверсного методу ідентичні інверсному методу Монте-Карло, як задачі мінімізації визначеної цільової функції.

Метод Монте-Карло вважають «золотим стандартом» в описі поширення оптичного випромінювання в БС і застосовують для визначення дифузного відбиття та повного пропускання. Алгоритм призначений для визначення величин дифузного відбиття і повного пропускання, функцій $\varphi(r)$ та $U(r)$, що є розподілом освітленості всередині середовища, а також функцій розподілу відбитого та пропущеного випромінювання для плоского, багатошарового, розсіювального та поглинаючого середовища, на одну з поверхонь якої падає монохроматичне випромінювання. Кожен шар середовища характеризується наступним набором параметрів: $\mu_{ai}, \mu_{si}, p_i(\hat{s}, \hat{s}'), n_i, d_i$ і-го шару БС.

Метод Монте-Карло базується на чисельному моделюванні транспорту фотонів у розсіювальному середовищі. Випадкове поширення фотонів всередині зразка БС простежують від точки попадання фотону в зразок до його повного поглинання або виходу. Метод Монте-Карло

розглядають в залежності від типу біомедичної оптичної задачі, яку необхідно розв'язати, і розділяють на прямий та інверсний, які, у свою чергу, мають різновиди в залежності від техніко-апаратних засобів. Прямі методи призначені для дослідження відгуку БС на вплив випромінюванням оптичного діапазону. Застосування цих методів дозволяє за відомими оптичними властивостями БС (μ_a , μ_s та g) отримати значення коефіцієнтів відбиття та пропускання середовища (R та T), що моделюється, а також отримати поверхневий розподіл дифузно-розсіяного випромінювання [93].

Зворотній (інверсний) метод полягає у визначенні параметрів, які описують властивості БС, як оптично мутного середовища. До таких параметрів відносять коефіцієнти поглинання μ_a та розсіяння μ_s , а також фактор анізотропії розсіяння g . Замість оптичних коефіцієнтів μ_a та μ_s , також використовують безрозмірні величини – альбеда Λ та оптичну товщину $d\tau$. Визначити вказані параметри можна розв'язуючи зворотну задачу ТПВ, коли за вимірними значеннями коефіцієнтів відбиття та пропускання розраховують величини оптичних властивостей БС. Зазначимо, що в контексті даного дослідження та прийнятої термінології фрази «оптичні параметри БС (БТ)» та «оптичні властивості БС (БТ)» є тотожними [94].

Поряд з різною функціональною цінністю розглянутих рішень основного рівняння теорії переносу випромінювання, зазначимо, що найбільшу інформативність може мати метод Монте-Карло, оскільки дозволяє відстежувати траєкторію руху окремих фотонів як всередині БС. так і в системі реєстрації розсіяних потоків. При цьому параметри джерела випромінювання також можуть бути враховані як з позицій енергетичних характеристик, так і з позицій просторового розподілу. Тому при розробці моделі поширення оптичного випромінювання в системі «джерело випромінювання + біологічне середовище + вимірювальний засіб» за основу доцільно використовувати саме методи Монте-Карло: прямий та інверсний.

1.5 Засоби для визначення та дослідження оптичних властивостей біологічних середовищ

Можливість широкого застосування засобів оптичної біомедичної діагностики пов'язана з необхідністю вирішення ряду завдань технічного та медичного спрямування, взаємозалежний розгляд яких може стати основою для отримання адекватної діагностичної інформації. Багато авторів, в тому числі [3], відмічали що чи не єдиним можливим шляхом вирішення техніко-медико-біологічного протиріччя в оптиці БС є побудова моделей взаємодії оптичного випромінювання в контексті функціонування конкретної вимірювальної системи. У переважній більшості сучасних дослідницьких засобів, починаючи від адаптивних терапевтичних апаратів і закінчуючи найскладнішими комплексами просторової візуалізації, у

якості зондуючого використовується лазерне випромінювання. На підставі розгляду оптичних властивостей різних БС та БТ, а також спектральної вибіркової [95] до проникнення в них лазерного випромінювання, необхідно відмітити необхідність окремого дослідження оптично прозорих і оптично мутних середовищ, яким властиве сильне розсіювання і селективне поглинання внаслідок присутності в них різних хромофорів. У багатьох випадках це не змінює конфігурації вимірювального засобу, а потребує лише відповідного налаштування та калібрування.

Очевидно, що внаслідок невідомого характеру поведінки оптичного випромінювання всередині середовища, оптичні властивості одних і тих же БС при дослідженнях *in vivo*, *in vitro*, *in situ* тощо різні. Це накладає обмеження на порівнюваність результатів лабораторної діагностики та неінвазивних вимірювань. Анізотропне розсіювання «назад» або «вперед», фазова функція розсіювання якого добре апроксимована формулою Хені-Грінштайна (1.11), ілюструє математичну поведінку фактору анізотропії в інтервалі $(-1; 1)$. Більшість існуючих методів і засобів оптичної біомедичної діагностики [55] в якості об'єкту аналізу зосереджують свою увагу на одному з «напрямків» розсіювання. Водночас, все більшого розповсюдження набувають методики та апаратура для одночасного дослідження властивостей біологічних середовищ у відбитому і пропущеному світлі [56, 96–98]. З огляду на це, охарактеризуємо типологію вимірювальних засобів, що використовують принципи ТПВ для визначення оптичних властивостей БС. До таких засобів відносять інтегруючі сфери, волоконно-оптичні та лінзові, а також дзеркальні системи. Причому інтерференційні методи, що становлять одну з найчисельніших груп біомедичного оптичного аналізу, не потребують окремого виділення, оскільки принципи реєстрації, що покладені в основу функціональної класифікації, ідентичні зазначеним вище засобам.

Інтегруюча сфера працює за принципом Тейлора [99–101] та інтегрує дифузно-відбите світло від досліджуваного БС на приймачі випромінювання. При цьому покриття внутрішньої поверхні сфери характеризується високим коефіцієнтом відбиття і добре розсіює падаюче на неї випромінювання. В основу роботи пристроїв біомедичного призначення цього типу, наприклад [102, 103] і наступних розробок, покладено принцип, у відповідності до якого світловий потік від джерела випромінювання за допомогою формуючої оптичної системи направляють у вхідний отвір і спрямовують на досліджувану ділянку БС. Відбитий досліджуваною ділянкою світло, багаторазово відбившись від стінок сфери, створює на них певну освітленість, яку вимірюють в вихідному отворі інтегруючої сфери. При конкретній конфігурації установки [56, 99] можливо як непряме, так і пряме вимірювання дифузно відбитого потоку і потоку, який пройшов крізь досліджуваний зразок. З огляду на багатократність відбиття всередині сфери і, як наслідок, реєстрації суми світлових потоків, що поширюються після відбиття в межах тілесного кута

2π , відзначимо застосування інтегруючої сфери виключно для вимірювання повних коефіцієнтів пропускання і дифузного відбиття досліджуваної ділянки. Можливість вимірювання колімованого пропускання потребує додаткового введення у вимірювальний канал щонайменше двох діафрагм [56]. На підставі вимірних коефіцієнтів пропускання та/або відбиття та з використанням відповідного методу або наближення визначають коефіцієнти розсіяння та поглинання досліджуваного БС. При використанні інверсного методу Монте-Карло можливо додатково обчислити і фактор анізотропії розсіяння, припустивши певний граничний діапазон його значень. Хоча метрологічні характеристики засобів з інтегруючими сферами доволі добре вивчені [104], їх використання для реєстрації різно-направлених потоків в межах тілесного кута 2π не можливе. До того ж для отримання просторового розподілу розсіяного випромінювання по сферичним координатами необхідно використовувати складну оптико-механічну систему, що робить процедуру дослідження оптичних властивостей БС тривалою, знижуючи при цьому її достовірність.

Волоконно-оптичні фотометричні системи [105] містять, як правило, джерело випромінювання, світло якого направляють в освітлювальний волоконний канал за допомогою характерної для конкретного виду приладів оптичної системи. Дистальний кінець освітлювальних і приймальних світловодів виготовлений і встановлений на поверхні досліджуваного зразка таким чином, щоб втрати на внутрішнє відбиття були мінімізовані, наприклад як в [106], а краї волоконного джгута екранували досліджувану поверхню від фонового випромінювання. Дифузно відбите світло збирається приймальним світловодом і передається на приймач випромінювання, а далі в систему обробки та візуалізації. Відзначаючи основні недоліки волоконно-оптичних систем, такі як втрати в волокні внаслідок багатократного розсіяння від ділянки досліджуваної поверхні, позначимо їх досить широке застосування в сучасних медико-діагностичних апаратах і системах (глюкометри, фотоплетизмографи, комплекси для офтальмології та ін.). Волоконно-оптичні, як і лінзові системи, мають низьку питому вагу зареєстрованого світла, тому вважаються мало-прийнятними саме для визначення оптичних властивостей БС. При цьому вони доволі вдало застосовуються в задачах дозиметрії та медичної візуалізації.

Найбільш інформативними системами для реєстрації дифузно відбитого і пропущеного світла з інженерної точки зору є дзеркальні та дзеркально-лінзові системи [107], наприклад з напівсферичним відбивачем [108]. Їх відмінною рисою є те, що досліджувана частина середовища і приймач випромінювання розташовані у взаємно пов'язаних точках поблизу від центру півсфери. Крізь отвір в півсфері потік прямує від джерела на досліджувану ділянку БТ, відбивається від неї і концентрується півсферою на приймачі. Така схема вимірювання вимагає використання

датчика з постійною чутливістю по куту 180^0 або як в деяких її модифікаціях [109] практично непридатна для досліджень *in vivo*, а багаторазові відбиття між БС і датчиком знижують діагностичну достовірність результатів вимірювання. Ключовими оптичними параметрами, що визначають при цьому є коефіцієнти поглинання та розсіювання.

Ідея використання еліпсоїда обертання в якості вимірювача дифузно відбитого світла була запропонована в [101] і в біомедичному застосуванні віднайшла своє продовження в [110]. Очевидність її переваг в поєднанні з координатним приймачем випромінювання дозволила реалізувати механізм визначення оптичних властивостей БС та їх просторового дослідження.

На рис. 1.11 передавлений просторовий розподіл розсіяного випромінювання, що може спостерігатись при використанні різних типів вимірювальних оптичних систем. Рисунок 1.11 ілюструє використання ординарних оптичних систем, що не утворюють в приймальній площині спеклове зображення. Таким чином, використання інтегруючих сфер дозволяє отримати інтегральну рівномірну освітленість діаметром, що відповідає вихідному отвору сфери. Похибка вимірювання є систематичною і визначається ступенем «задіяності» внутрішньої відбиваючої поверхні [101].

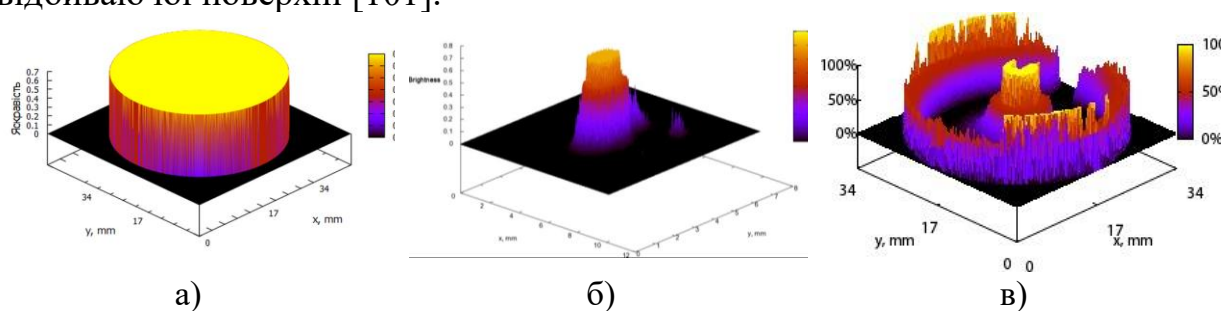


Рис. 1.11 Розподіл освітленості в приймальній площині матричного приймача випромінювання при використанні: інтегруючої сфери (в); волоконно-оптичної або лінзової системи (б): дзеркального еліпсоїда обертання (в)

Волоконно-оптичні або лінзові системи формують розподіл освітленості, обумовлений дією оптичної системи як фільтра просторових частот. Такий розподіл обмежений приймальною апертурою і не дозволяє зареєструвати оптичне випромінювання, що вийшло з БС під значними зенітними кутами. Використання дзеркального еліпсоїда обертання з внутрішньою відбиваючою поверхнею або еліпсоїдального рефлектора позбавлене зазначених недоліків і дозволяє зібрати (за умови вибору належного фокального параметра) практичне все розсіяне випромінювання, що вийшло з досліджуваного БС. Проте наразі такий позитивний практичний ефект не має достатнього математичного та аналітичного підґрунтя, не підкріплений адекватною, апаратно-адаптованою математичною моделлю поширення оптичного

випромінювання у системі «джерело випромінювання + біологічне середовище + вимірювальний засіб». Тому дане дослідження присвячене розробці методології еліпсоїдальних рефлекторів в системах реєстрації та аналізу розсіяного оптичного випромінювання, а також апробації конструктивних, функціональних та медико-біологічних рішень при дослідженні оптичних властивостей біологічних середовищ та тканин.

З іншої точки зору, процедура дослідження оптичних властивостей БС потребує використання різноманітної апаратури для визначення конкретного коефіцієнта або показника. Так, визначення показника заломлення БС здійснюється за допомогою гоніометричних методів, які вважаються найпоширенішими і базуються на вимірюванні критичного кута у відбитому від середовища світлі. Основним можна вважати метод вимірювання критичного кута, який реалізується з використанням напів-циліндричної призми [111], проте можливе використання й інших видів призм, наприклад прямокутної [112 – 119]. Інші методи визначення показника заломлення БС характеризуються можливістю вимірювання відстаней на основі явища інтерференції [120 – 122]. Найбільш поширеним в цьому класі методів є використання оптичного ядра з інтерферометром Майкельсона. Також показники заломлення біологічних зразків можуть бути визначені з використанням мікроскопного обладнання у пропущеному світлі [123 – 127]. Величина фактору анізотропії розсіяння в основному визначається гоніометричними методами [74, 75, 128 – 130]. а також деякими новітніми технологіями, зокрема когерентної оптичної томографії [131].

Таким чином, при визначенні біофотометричного базису БС необхідно використовувати щонайменше три групи вимірювальних засобів: одна для визначення коефіцієнтів розсіяння та поглинання, друга – для вимірювання показника заломлення, а третя – для вимірювання фактору анізотропії розсіяння. При цьому в залежності від обраної моделі поширення оптичного випромінювання всередині БС точність застосування інверсної процедури визначатиметься суто математичними критеріями. З огляду на вищезазначене, другою важливою проблемою, що вирішуватиметься при використанні еліпсоїдальних рефлекторів у якості ядра інформаційно-вимірювальної системи, буде скорочення кількості застосовуваних вимірювальних засобів до двох, а моделей світлорозсіяння до однієї, що характеризуватиме принципи рей-трейсингу у вимірювальній системі.

Список використаних джерел до розділу 1

1. G. Keiser, *Biophotonics*. Singapore: Springer Science+Business Media, 2016.
2. J. Popp, V.V. Tuchin, A. Chiou, and St.H. Heinemann. *Handbook of Biophotonics. Vol.1: Basics and Techniques*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH, 2011.

3. В.В. Тучин, *Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях*. М Физматлит, 2010.
4. Yun S. H., Kwok S.J.J. Light in diagnosis, therapy and surgery. *Nature Biomedical Engineering*. 2017. Vol. 1, no. 0008.
5. В.В. Тучин, Исследование биотканей методами светорассеяния, *Успехи физических наук*, том 167, с.517 – 539, 1997.
6. J.E. Phipps, L. Marcu, Lasers in cardiology. *Lasers for Medical Applications*, p. 490–508, 2013.
7. M. Okada, M. Yoshida, Y. Tsuji, and H. Horii, Clinical application of laser treatment for cardiovascular surgery. *Laser therapy*, vol. 20, no. 3, p. 217–232, 2011.
8. L. Liu, J.A. Gardecki, S.K. Nadkarni, J.D. Toussaint, Y. Yagi, B.E. Bouma, and G.J. Tearney, Imaging the subcellular structure of human coronary atherosclerosis using micro-optical coherence tomography, *Nature Medicine*, vol. 17, no.8, p. 1010–1014, 2011.
9. A.V. Dunaev, V.V. Sidorov, N.A. Stewart, S.G. Sokolovski, and E.U. Rafailov, "Laser reflectance oximetry and Doppler flowmetry in assessment of complex physiological parameters of cutaneous blood microcirculation", in *Proc. of SPIE Advanced Biomedical and Clinical Diagnostic Systems XI*, vol. 8572, p. 857205-1, 2013.
10. Y.-S. Hsieh, Y.-C. Ho, S.-Y. Lee, C.-C. Chuang, J. Tsai, K.-F. Lin, and C.-W. Sun, Dental Optical Coherence Tomography, *Sensors*, vol. 13, no. 7, p. 8928–8949, 2013.
11. L. Karlsson, Caries Detection Methods Based on Changes in Optical Properties between Healthy and Carious Tissue, *Intern.Journal of Dentistry*, p. 1–9, 2010.
12. V.G.A. Suter, S. Sjölund, and M.M. Bornstein, Effect of laser on pain relief and wound healing of recurrent aphthous stomatitis: a systematic review, *Lasers in Medical Science*, vol. 32, no. 4, p. 953–963, 2017.
13. P. Mansouri, M. Ranjbar, E. Abolhasani, R. Chalangari, K. Martits-Chalangari, and S. Hejazi, "Pulsed dye laser in treatment of steroid-induced atrophy", *Journal of Cosmetic Dermatology*, vol. 14, no. 4, p. E15–E20, 2015.
14. A.A. Meesters, L.H.U. Pitassi, V. Campos, A. Wolkerstorfer, and C.C. Dierickx, Transcutaneous laser treatment of leg veins, *Lasers in Medical Science*, vol. 29, no. 2, p. 481–492, 2013.
15. N. Polnikorn, New Approach for Laser Treatment of Melasma and Hyperpigmented Lesions, *Journal of Pigmentary Disorders*, vol. 1, no. 4, 2014.
16. T. Ohshiro, K. Sasaki, "Laser Scar Management Technique", *Laser therapy*, vol. 22, no. 4, p. 255–260, 2013.
17. O.A. Ibrahim, M.M. Avram, C.W. Hanke, S.L. Kilmer, and R.R. Anderson, Laser hair removal, *Dermatologic Therapy*, vol. 24, p. 94–107, 2011.
18. S. Coda, P. Siersema, G. Stamp, and A. Thillainayagam, Biophotonic endoscopy: a review of clinical research techniques for optical

imaging and sensing of early gastrointestinal cancer, *Endoscopy International Open*, vol. 03, no. 05, p. E380–E392, 2015.

19. M. Goetz, A. Watson, and R. Kiesslich, Confocal laser endomicroscopy in gastrointestinal diseases, *Journal of Biophotonics*, vol. 4, no. 7-8, p. 498–508, 2011.

20. Yano T., Hatogai K., Morimoto H., Yoda Yu., Kaneko K. Photodynamic therapy for esophageal cancer. *Ann Transl Med.* 2014. Vol. 2, no. 3:29.

21. Ell C., Gossner L., May A., Schneider H. T., Hahn E. G., Stolte M., Sroka R. Photodynamic ablation of early cancers of the stomach by means of mTHPC and laser irradiation: preliminary clinical experience. *Gut.* 1998. Vol. 43, no. 3. P. 345–349.

22. Monkewich G.J., Haber G.B. Novel endoscopic therapies for gastrointestinal malignancies: endoscopic mucosal resection and endoscopic ablation. *Medical Clinics of North America.* 2005. Vol. 89, no. 1. P. 159–186.

23. Rosenfeld G., Enns R. Argon Photocoagulation in the Treatment of Gastric Antral Vascular Ectasia and Radiation Proctitis. *Canadian Journal of Gastroenterology.* 2009. Vol. 23, no. 12. P. 801–804.

24. Fass L. (2008). *Imaging and cancer: A review. Molecular Oncology*, 2(2), 115–152.

25. Kinsella T.J., Colussi V.C., Oleinick N.L., Sibata C.H. Photodynamic therapy in oncology. *Expert Opinion on Pharmacotherapy.* 2001. Vol. 2, no. 6. P. 917–927.

26. O'Connor A.E., Gallagher W.M., Byrne, A.T. Porphyrin and Nonporphyrin Photosensitizers in Oncology: Preclinical and Clinical Advances in Photodynamic Therapy. *Photochemistry and Photobiology.* 2009. Vol. 85, no. 5. P. 1053–1074.

27. Carrasco-Zevallos O.M., Keller B., Viehland C., Shen L., Seider M.I., Izatt J.A., Toth C.A. Optical Coherence Tomography for Retinal Surgery: Perioperative Analysis to Real-Time Four-Dimensional Image-Guided Surgery. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2016. Vol. 57, no. 9. P. OCT37.

28. Becker B.C., Valdivieso C.R., Biswas J., Lobes L.A., Riviere C.N. Active guidance for laser retinal surgery with a handheld instrument. *Proc. in Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 2009.

29. Kim P., Sutton G. L., Rootman D. S. Applications of the femtosecond laser in corneal refractive surgery. *Current Opinion in Ophthalmology.* 2011. Vol. 22, no. 4. P. 238–244.

30. Bhaduri B., Shelton, R.L., Nolan R.M., Hendren L., Almasov A., Labriola L.T., Boppart S.A. Ratiometric analysis of optical coherence tomography-measured in vivo retinal layer thicknesses for the detection of early diabetic retinopathy. *Journal of Biophotonics.* 2017. Vol. 10, no. 11. P. 1430–1441.

31. Kotowski J., Wollstein G., Ishikawa H., Schuman J.S. Imaging of the optic nerve and retinal nerve fiber layer: An essential part of glaucoma diagnosis and monitoring. *Survey of Ophthalmology*. 2014. Vol. 59, no. 4. P. 458–467.
32. Chow B.Y., Boyden E.S. Optogenetics and Translational Medicine. *Science Translational Medicine*. 2013. Vol. 177, no. 5. P. 177ps5–177ps5.
33. Lobo M.K., Nestler E. J., Covington H.E. Potential Utility of Optogenetics in the Study of Depression. *Biological Psychiatry*. 2012. Vol. 71, no. 12. P. 1068–1074.
34. Vasefi F., MacKinnon N., Farkas D. L., Kateb B. Review of the potential of optical technologies for cancer diagnosis in neurosurgery: a step toward intraoperative neurophotonics. *Neurophotonics*. 2016. Vol. 4, no. 1. P. 011010.
35. J.J. Anders, R.J. Lanzafame, and P.R. Arany, Low-Level Light/Laser Therapy Versus Photobiomodulation Therapy, *Photomedicine and Laser Surgery*, vol. 33, no. 4, pp. 183–184, 2015.
36. C. Ferraresi, Y.-Y. Huang, and M.R. Hamblin, Photobiomodulation in human muscle tissue: an advantage in sports performance?, *Journal of Biophotonics*, vol. 9, no. 11-12, pp. 1273–1299, 2016.
37. M. Hamblin, *Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation*, *AIMS Biophysics*, vol. 4, no. 3, pp. 337–361, 2017.
38. D.P. Kuffler, Photobiomodulation in promoting wound healing: a review, *Regenerative Medicine*, vol. 11, no. 1, pp. 107–122, 2016.
39. J.L. Alió, *Keratoconus: Recent Advances in Diagnosis and Treatment*, Switzerland: Springer International Publishing, 2017.
40. I.C. Kuo, T.P. O'Brien, A.T. Broman, M. Ghajarnia, and N.S. Jabbur, Excimer laser surgery for correction of ametropia after cataract surgery, *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, vol. 31, no. 11, pp. 2104–2110, 2005.
41. E.E. Manche, J.D. Carr, W.W. Haw, and P.S. Hersh, Excimer laser refractive surgery, *West J Med*, vol. 169, no. 1, pp. 30–38, 1998.
42. S.L. Jacques, C.A. Alter, and S.A. Prahl, Angular Dependence of HeNe Laser Light Scattering by Human Dermis, *Lasers Life Sci.*, no. 1, pp. 309–333, 1987.
43. V.G. Peters, D.R. Wyman, M.S. Patterson, and G.L. Frank, Optical properties of normal and diseased human breast tissues in the visible and near infrared, *Physics in Medicine and Biology*, vol. 35, no. 9, pp. 1317–1334, 1990.
44. D.A. Boas, C. Pitris, and N. Ramanujam, *Handbook of Biomedical Optics*, London, New York: CRC Press, Taylor and Francis Group, 2011.
45. J.F. De Boer, S.M. Srinivas, B.H. Park, T.H. Pham, Zh. Chen, T.E. Milner, and J.S. Nelson, Polarization effects in optical coherence tomography of various biological tissues. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, vol. 5, no. 4, pp. 1200 –1204, 1999.

46. H. Ding, J.Q. Lu, K.M. Jacobs, and X.H. Hu, Determination of refractive indices of porcine skin tissues and intralipid at eight wavelengths between 325 and 1557 nm, *J. Opt. Soc. Am.*, vol. 22, no. 6, pp. 1151 – 157, 2005.
47. F.P. Bolin, L.E. Preuss, R.C. Taylor, and R.J. Ference, Refractive index of some mammalian tissues using a fiber optic cladding method, *Appl. Opt.*, vol. 28, pp. 2297–2303, 1989.
48. R.H. Wilson, K.P. Nadeau, F.B. Jaworski, B.J. Tromberg, and A.J. Durkin, Review of short-wave infrared spectroscopy and imaging methods for biological tissue characterization, *Journal of Biomedical Optics*, vol. 20, no. 3, p. 030901, 2015.
49. F. Stelzle, K. Tangermann-Gerk, W. Adler, A. Zam, M. Schmidt, A. Douplik, and E. Nkenke, Diffuse reflectance spectroscopy for optical soft tissue differentiation as remote feedback control for tissue-specific laser surgery, *Lasers in Surgery and Medicine*, vol. 42, no. 4, pp. 319–325, 2010.
50. G. Zonios, and A. Dimou, Modeling diffuse reflectance from homogeneous semi-infinite turbid media for biological tissue applications: a Monte Carlo study, *Biomedical Optics Express*, vol. 2, no. 12, p. 3284, 2011.
51. K. Franjic, M.L. Cowan, D. Kraemer, and R.J.D. Miller, Laser selective cutting of biological tissues by impulsive heat deposition through ultrafast vibrational excitations. *Optics Express*, vol. 17, no. 25, p. 22937, 2009.
52. R. Wallach-Kapon, A. Sa'ar, A. Shalhav, S. Akselrod, and A. Katzir, "Cutting of biological tissue underwater by CO₂ lasers: using the cavitation effect", in *Proc. Laser-Tissue Interaction*, vol. 1202, 1990).
53. P. Matteini, F. Rossi, F. Ratto, and R. Pini, Laser Welding of Biological Tissue: Mechanisms, Applications and Perspectives. *Laser Imaging and Manipulation in Cell Biology*, pp. 203–231, 2010.
54. A. Vogel, and V. Venugopalan, Mechanisms of Pulsed Laser Ablation of Biological Tissues, *Chemical Reviews*, vol. 103, no. 2, pp. 577–644, 2003.
55. V. V. Tuchin, *Optical Biomedical Diagnostics*, Moscow: Fizmatlit, 2008.
56. A. Ishimaru, *Wave Propagation and Scattering in Random Media*, New York: Academic, 1978.
57. L. Thrane, H.T. Yura, and P.E. Andersen, Analysis of optical coherence tomography systems based on the extended Huygens–Fresnel principle, *Journal of the Optical Society of America A*, vol. 17, no. 3, p. 484, 2000.
58. A.F. Fercher, Optical coherence tomography – development, principles, applications, *Zeitschrift Für Medizinische Physik*, vol. 20, no. 4, pp. 251–276, 2010.
59. R. Bernardes, J.Cunha-Vaz, *Optical Coherence Tomography*, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2012.

60. J.B. Pawley, *Handbook Of Biological Confocal Microscopy*, Boston, MA: Springer-Verlag US, 2006.
61. W.B. Amos, and J.G. White, How the Confocal Laser Scanning Microscope entered Biological Research, *Biology of the Cell*, vol. 95, no. 6, pp. 335–342, 2003.
62. J.R. Mourant, J.P. Freyer, A.H. Hielscher, A.A. Eick, D. Shen, and T.M. Johnson, Mechanisms of light scattering from biological cells relevant to noninvasive optical-tissue diagnostics, *Applied Optics*, vol. 37, no. 16, p. 3586, 1998.
63. V. Degiorgio, J.C. Earnshaw, M.W. Steer, *The Application of Laser Light Scattering to the Study of Biological Motion*, Springer US, 1983.
64. J.W. Chan, D.S. Taylor, Th. Zwerdling, S.M. Lane, Ch.E. Talley, Ch.W. Hollars, and Th.Huser, "Raman spectroscopy: chemical analysis of biological samples", in *Advances in Biophotonics*, B.C. Wilson et al. (Eds.) IOS Press, 2005, pp. 148-168.
65. A. M.-Jansen, Ch. A. Patil, and I. J. Pence, "Raman spectroscopy: from benchtop to bedside", in *Biomedical Photonics Handbook* vol. II: Biomedical Diagnostics, T. Vo-Dinh Duke University Durham, North Carolina, USA: CRC PressTaylor & Francis Group, 2015, pp. 759- 803.
66. L.A. Nafie, "Theory of Raman scattering", in *Handbook of Raman spectroscopy*, I.R. Lewis, H.G.M. Edwards, New York: Marcel Dekker, 2001, pp.1-10.
67. W.J. Wiscombe, Improved Mie scattering algorithms, *Applied Optics*, vol. 19, no. 9, p. 1505, 1980.
68. I.S. Saidi, S.L. Jacques, and F.K. Tittel, Mie and Rayleigh modeling of visible-light scattering in neonatal skin, *Applied Optics*, vol. 34, no. 31, p. 7410, 1995.
69. T. Konevskikh, R. Lukacs, and A. Kohler, An improved algorithm for fast resonant Mie scatter correction of infrared spectra of cells and tissues, *Journal of Biophotonics*, vol. 11, no. 1, p. e201600307, 2017.
70. Y. Pu, W. Wang, M. Al-Rubaiee S.K., Gayen, and M. Xu, Determination of Optical Coefficients and Fractal Dimensional Parameters of Cancerous and Normal Prostate Tissues. *Applied Spectroscopy*, vol. 66, no. 7, pp. 828–834, 2012.
71. A. Roggan, M. Friebel, K. Dörschel, A. Hahn, and G. Müller, Optical Properties of Circulating Human Blood in the Wavelength Range 400–2500 nm, *Journal of Biomedical Optics*, vol. 4, no. 1, p. 36, 1999.
72. L.C. Henyey, J.L. Greenstein, Diffuse radiation in the galaxy, *Astrophys. J.*, no. 93, pp. 70–83, 1941.
73. M. Hammer, A.N. Yaroslavsky, and D. Schweitzer, A scattering phase function for blood with physiological haematocrit, *Physics in Medicine and Biology*, vol. 46, no. 3, pp. N65–N69, 2001.
74. Безугла Н. В. Просторова фотометрія біологічних середовищ. Дисертація кандидата технічних наук., НТУУ «КПІ», Київ, 2016.

75. S.A. Prahl Light transport in tissue. Dissert. of PhD, The University of Texas at Austin, 1988.
76. J. Depciuch, E. Kaznowska, I. Zawlik, R. Wojnarowska, M. Cholewa, P. Heraud, and J. Cebulski, Application of Raman Spectroscopy and Infrared Spectroscopy in the Identification of Breast Cancer, *Applied Spectroscopy*, vol. 70, no. 2, pp. 251–263, 2016.
77. К.С. Шифрин, *Рассеяние света в мутной среде*, Л.: Государственное издательство технико-теоретической литературы, 1951.
78. Ю. Н. Барабаненков, Многократное рассеяние волн на ансамбле частиц и теория переноса излучения, *Успехи физических наук*, №1, с. 49–77, 1975.
79. M. Schweiger, S. R. Arridge, M. Hiraoka, and D. T. Delpy, The finite element method for the propagation of light in scattering media: boundary and source conditions, *Medical Physics*, vol. 22, no. 11, part 1, pp. 1779 – 1792, 1995.
80. A.K. Dunn, Finite-difference time-domain simulation of light scattering from single cells, *Journal of Biomedical Optics*, vol. 2, no. 3, pp. 262, 1997.
81. O.C. Zienkiewicz, R.L. Taylor, *The finite method. First edition. Vol.1: The Basis*, Butterworth Heinemann, Oxford, 2000.
82. S.D. Gedney, Introduction to the Finite-Difference Time-Domain (FDTD) Method for Electromagnetics. *Synthesis Lectures on Computational Electromagnetics*, vol. 6, no. 1, pp. 1–250, 2011.
83. K. Tsia, *Understanding Biophotonics: Fundamentals, Advances, and Applications*, Jenny Stanford Publishing, 2015.
84. Э.А. Генина, Оптика биотканей [Электронный ресурс], Режим доступа до ресурсу: http://www.optics.edu.ru/_media/library/education/optbiotissue_1-8.pdf.
85. К.С. Адзерихо, *Лекции по теории переноса лучистой энергии*. Под ред. М. А. Ельяшевича, М.: БГУ, 1975.
86. M. Gabriela, Mathematical Methods in Biomedical Optics, *ISRN Biomedical Engineering*, pp. 1–8, 2013,
87. Ж. Ленобль, *Перенос радиации в рассеивающих и поглощающих атмосферах. Стандартные методы расчета*: Пер. с англ., Ленинград: Гидрометеиздат, 1990.
88. P. Kubelka, and F.Munk, Ein Beitrag zur Optic der Farbanstriche, *Tech. Phys.*, vol. 12, pp. 593-601, 1931.
89. Н.В. Безугла, М.О. Безгулий, та Ю.В. Чмир, Просторова потокова біометрія середовищ еліпсоїдальними рефлекторами, *Electronics and communications*, том 19, № 6, с. 87-93, 2014.
90. Y. Hongying, Z. Sukang, L.I Kejing, and P. Ning, Modelling Fabric's Optical Behaviors, *Materials Science Forum*, vol. 575-578, pp. 1266-1271, 2008.

91. S.A. Prahl, M.J.C. van Gemert, and A.J. Welch, Determining the optical properties of turbid media by using the adding–doubling method, *Applied Optics*, vol. 32, no. 4, p. 559, 1993.
92. S. Prahl, Optical Property Measurements using the Inverse Adding-Doubling Program January 1999 <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.202.3942&rep=rep1&type=pdf>.
93. L. Wang, S.L. Jacques, and L. Zheng, MCML—Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues, *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 47, no. 2, pp. 131–146, 1995.
94. H. Karlsson, I. Fredriksson, M. Larsson, and T. Strömberg, Inverse Monte Carlo for estimation of scattering and absorption in liquid optical phantoms, *Optics Express*, vol. 20, no. 11, p. 12233, 2012.
95. H.-P. Berlien and G. J. Müller, *Applied Laser Medicine*, Berlin: Springer-Verlag, 2003.
96. D.A. Rogatkin, Development of the two-fluxes Kubelka-Munk approach to solve 1D task of the light transport into biological scattering tissues and media, *Optics and spectroscopy*, v.87, no. 1, pp.109-114, 1999.
97. P.E. Hänninen, S.W. Hell, J. Salo, E. Soini, and C. Cremer, Two-photon excitation 4Pi confocal microscope: Enhanced axial resolution microscope for biological research, *Applied Physics Letters*, vol. 66, no. 13, pp. 1698–1700, 1995.
98. J.W. Pickering, S.A. Prahl, N. van Wieringen, J.F. Beek, H.J.C.M. Sterenborg, and M.J.C. van Gemert, Double-integrating-sphere system for measuring the optical properties of tissue, *Applied Optics*, vol. 32, no. 4, p. 399, 1993.
99. K. F. Carr, and Surf. Coat, Integrating sphere theory and applications Part I: Integrating sphere theory and design, *Surface Coatings International*, vol. 80, no. 8, pp. 380 – 385, 1997.
100. K. F. Carr, and Surf. Coat, Integrating sphere theory and applications Part II: Integrating sphere applications, *Surface Coatings International*, vol. 80, no. 10, pp. 485 – 490, 1997.
101. A.S. Toporets, *Optics of Rough Surfaces*, Leningrad: Mashinostroenie, 1988.
102. В.Г. Петрук, М.А. Томчук, Ua Patent No. 33078.
103. В.Г. Петрук, М.А. Томчук, Пристрій для неінвазивної діагностики матеріалів біомедичного походження, патент України на винахід, *МПК 51G01N 21/47, G01N 21/55, G01N 33/483*, 03.11.1998.
104. Л.А. Міхєєнко, Ю.О. Гордієнко, Метрологічний аналіз дифузного випромінювача змінної яскравості на основі спряжених інтегруючих сфер, *Наукові вісті НТУУ «КПІ»*, №5, с. 88 – 95, 2009.
105. A.J. Dosmann Coaxial diffuse reflectance read head, Patent US, US2009/0021743 A1, 2009.

106. Э.Е. Стрежекуров, Е.А. Стрежекурова, Ю.А. Гасило, и С.Н. Долгов, Устройство для определения отражательной способности материалов. А. с. №1286965 // Б.И. 1987. №4.
107. Л.А. Міхеєнко, та А.Я. Шевчук, Лінзові авторефлектори темного поля для малогабаритних оптично-електронних приладів, *Наукові вісті НТУУ «КПІ»*, №4, с. 115 – 121, 2001.
108. Snail K.A. Reflectometers. US Patent 4988205 // 1991.
109. V.V. Trembach, *Light Instruments*, Moscow: Vysshaya Shkola, 1990.
110. М.О. Безуглий, Т.Р. Ключко, Г.С. Тимчик, та А.Т. Циганков, Дозиметр опитчного випромінювання, патент України на користу модель, *МПК51 51G01N 21/47, G01N 21/55 №61635*, 17.11.2003.
111. H. Li, S. Xie, Measurement method of the refractive index of biotissue by total internal reflection, *Appl. Opt.* 35, 1793 – 1795 (1996).
112. Sh. Cheng, H. Yu. Shen, G. Zhang, Ch. Hu. Huang, and X. J. Huang, "Measurement of the refractive index of biotissue at four laser wavelengths", in *Proc. SPIE 4916, Optics in Health Care and Biomed. Optics: Diagnostics and Treatment*, 2002.
113. V. Tsenova, and E. Stoykova, Refractive index measurement in human tissue samples, in *Proc. SPIE 5226*, pp. 413–417, 2003.
114. H. Ding, J.Q. Lu, K. Jacobs, and Hu.X.H. Mand, Determination of refractive indices of porcine skin tissues and intralipid at eight wavelengths between 325 and 1557 nm, *J. Opt. Soc. Am.*, vol. 22, no. 6, pp. 1151 – 1157, 2005.
115. H. Li, S. Xie, Measurement method of the refractive index of biotissue by total internal reflection, *Appl. Opt.*, no. 35, pp. 1793-1795, 1996.
116. Y. L. Jin, J. Y. Chen, L. Xu, and P. N. Wang, Refractive index measurement for biomaterial samples by total internal reflection, *Phys. Med. Biol.*, no. 51, N371-379, 2006.
117. Ye. Qing , J. Wang, Zh.-Ch.Deng, W.-Yu. Zhou, Ch.-P. Zhang, J.-G. Tian, Measurement of the complex refractive index of tissue-mimicking phantoms and biotissue by extended differential total reflection method, *Journal of Biomedical Optics*, vol. 16, no. 9, p. 097001, 2011.
118. L. Jiancheng , L. Zhenhua ,W. Chunyong, and H. Anzhi "Effective refractive indices of biological tissues and its experimental determination", in *Proc. SPIE 5630, Optics in Health Care and Biomedical Optics: Diagnostics and Treatment II*, 2005.
119. S. Cheng, H. Y. Shen, G. Zhang, C. H. Huang, X. J. Huang, "Measurement of the refractive index of biotissue at four laser wavelengths", in *Proc. SPIE 4916, Optics in Health Care and Biomedical Optics: Diagnostics and Treatment*, 2002.
120. W.V. Sorin, and D.F. Gray, Simultaneous thickness and group index measurement using optical lowcoherence refractometry, *IEEE Photon. Technol. Lett.*, vol.4, pp. 105-107, 1992.

121. A. Knüttel, and M. Boehlau-Godau, Spatially confined and temporally resolved refractive index and scattering evaluation in human skin performed with optical coherence tomography, *J. Biomed. Opt.*, vol. 5, pp. 83-92, 2000.
122. G.J. Tearney, M.E. Brezinski, J.F. Southern, B.E. Bouma, M.R. Hee, and J.G. Fujimoto, Determination of the refractive index of highly scattering human tissue by optical coherence tomography, *Opt. Lett.*, no. 20, pp. 2258 – 2260, 1995.
123. J.J. Dirckx, L.S. Kuypers, W.F., Decraemer, Refractive index of tissue measured with confocal microscopy, *J. Biomed. Opt.*, vol. 10, 2005.
124. R. Wang, N.Zh. Xu, and M.J.Wang, "The influence of the complex refractive index of tissues on the image contrast of phase-contrast microscopy", in *Proc. SPIE 6026, ICO20: Biomedical Optics*, 60260X, 2006.
125. T. Lai, S.P. Chong, Y. Zhou, G. Moloney, and Sh. Tang, "Corneal imaging and refractive index measurement using a combined multiphoton microscopy and optical coherence tomography system", in *Proc. SPIE 8588, Multiphoton Microscopy in the Biomedical Sciences XIII*, 85882S, 2013.
126. B. Rappaz, F. Charrière, Ch. Depeursinge, P.J. Magistretti, and P. Marquet, Simultaneous cell morphometry and refractive index measurement with dual-wavelength digital holographic microscopy and dye-enhanced dispersion of perfusion medium, *Opt. Lett.*, no. 33, pp. 744-746, 2008.
127. D. Fu, W. Choi, Y. Sung, Z. Yaqoob, R. R. Dasari, and M. Feld, Quantitative dispersion microscopy, *Biomed. Opt. Express*, no. 1, pp. 347-353, 2010.
128. G. Hall et al., Goniometric measurements of thick tissue using Monte Carlo simulations to obtain the single scattering anisotropy coefficient, *Biomedical optics express*, vol. 3, no. 11, 2707–2719, 2012.
129. P. Saccomandi et al., "Goniometric measurement for the estimation of anisotropy coefficient of human and animal pancreas", in *Proc. 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, 2015, pp. 1283 - 1286.
130. D. Fukutomi, K. Ishii, and K. Awazu, Determination of the scattering coefficient of biological tissue considering the wavelength and absorption dependence of the anisotropy factor, *Optical Review*, vol. 23, no. 2, pp. 291–298, 2015.
131. V.M. Kodach, D.J. Faber, J. van Marle, T.G.van Leeuwen, and J. Kalkman, Determination of the scattering anisotropy with optical coherence tomography, *Optics Express*, vol. 19, no. 7, p. 6131, 2011.