

Использование модельных образцов кожи человека на основе полиакриламида в задачах гиперспектральной флуоресцентной визуализации и спектроскопии

В.В.Шуплецов, Е.А.Жеребцов, В.В.Дрёмин, А.П.Попов,
А.В.Быков, Е.В.Потапова, А.В.Дунаев, И.В.Меглинский

На основе комбинированного использования полимеризуемого полиакриламида, коллагена и водного раствора флавинадениндинуклеотида (ФАД) разработана методика изготовления нового типа композитных модельных сред, имитирующих флуоресцентные свойства кожи человека. Представлен сравнительный анализ коэффициентов поглощения и рассеяния, показателей преломления, а также спектров флуоресценции модельных образцов с различной концентрацией ФАД, измеренных при совместном использовании ПЗС-спектрометра и гиперспектральной камеры. Для воспроизведения показателей рассеяния, близких по своим значениям к параметрам рассеяния кожи человека, использовались наночастицы оксида цинка (ZnO), добавляемые в полиакриламидную полимерную структуру. Вариации формы спектра, а также интенсивности сигнала флуоресценции в модельных образцах обеспечивались изменением объемного содержания ФАД и коллагена. Показано, что модельные флуоресцентные спектры удовлетворительно согласуются с результатами прямых измерений кожи человека in vivo.

Ключевые слова: оптические свойства, кожа человека, модельные образцы, коллаген, флавинадениндинуклеотид, гиперспектральная визуализация, флуоресцентная спектроскопия.

1. Введение

В связи с устойчивым ускорением развития медицинских диагностических технологий, наблюдаемым в настоящее время, существенно увеличился спектр оптических методов, используемых или находящихся на пути внедрения в повседневную клиническую практику, включая оптическую когерентную томографию (ОКТ), фотоакустическую томографию, оптическую, рамановскую, флуоресцентную спектроскопию, спектроскопию динамического рассеяния света и др. [1]. Разработка, калибровочные измерения, верификация и стандартизация методов оптической диагностики требуют всестороннего те-

стирования последних с использованием контрольных образцов биотканей либо калибровочных модельных образцов (МО) с известными и количественно подтвержденными оптомеханическими свойствами, включая структурные геометрические особенности и форму. Использование МО в качестве тест-объектов позволяет с высокой точностью калибровать системы измерения, настраивать метод измерения на получение полезного сигнала/изображения с определённой глубины, локализовывать измеряемый объём, а также стандартизировать результаты измерений, получаемых приборами разных производителей. Следует отметить, что качество стандартизации существенно зависит от использования материалов с контролируемыми оптическими свойствами, удовлетворяющими условию стационарности. Поскольку оптические свойства биотканей весьма вариабельны в зависимости от условий и времени хранения, МО оказываются чрезвычайно востребованными как на стадии разработки, так и при калибровочных измерениях в процессе эксплуатации приборов.

За последние 15–20 лет были разработаны МО, имитирующие оптические свойства различных биотканей [2], для ряда диагностических методов, например поляриметрии [3], ОКТ [4], доплеровской ОКТ [5], терагерцевой спектроскопии [6], флуоресцентной спектроскопии [7], лазерной спекл-контрастной визуализации [8] и др. Для воспроизведения параметров флуоресценции в наиболее простых МО используются водные коллоидные растворы (например, интралипид) с добавлением поглощающих красителей, а также веществ, имеющих ярко выраженную собственную флуоресценцию при возбуждении в требуемом диапазоне длин волн [9–12]. В таких МО в качестве матричного материала можно использовать буферные растворы с необходимым значением pH для обеспечения среды, совместимой с естественной структурой органиче-

В.В.Шуплецов, Е.В.Потапова, А.В.Дунаев. Научно-технологический центр биомедицинской фотоники Орловского государственного университета им. И.С.Тургенева, Россия, 302020 Орёл, Наугорское ш., 29; e-mail: valery.shupletsov@bmccenter.ru

Е.А.Жеребцов. Научно-технологический центр биомедицинской фотоники Орловского государственного университета им. И.С.Тургенева, Россия, 302020 Орёл, Наугорское ш., 29; Optoelectronics and Measurement Techniques Unit, University of Oulu, Oulu, Finland

В.В.Дрёмин. Научно-технологический центр биомедицинской фотоники Орловского государственного университета им. И.С.Тургенева, Россия, 302020 Орёл, Наугорское ш., 29; College of Engineering and Physical Sciences, Aston University, Birmingham, UK

А.П.Попов. VTT Technical Research Centre of Finland, Oulu, Finland

А.В.Быков. Optoelectronics and Measurement Techniques Unit, University of Oulu, Oulu, Finland

И.В.Меглинский. Optoelectronics and Measurement Techniques Unit, University of Oulu, Oulu, Finland; College of Engineering and Physical Sciences, Aston University, Birmingham, UK; Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Россия, 115409 Москва, Каширское ш., 31; Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр.2

ских молекул, моделирующих те или иные свойства живого организма [13, 14]. При разработке МО, имитирующих капиллярное сосудистое русло, используются различные пористые структуры, что позволяет достичь наибольшего сходства структурных и геометрических особенностей разрабатываемого тест-объекта для верификации оптических измерений [15]. Для имитации мягких тканей используются МО как с гибридной структурой, так и гель-восковые, на основе минерально-масляного материала [16]. Были предложены МО с применением диметилформамида в качестве растворителя и протопорфирина IX в качестве флуорофора, имитирующих параметры флуоресценции опухолевых тканей [11].

Для создания МО с требуемыми размерами, геометрической формой и наличием неоднородности актуальным является использование пластичных слоев с заданными поглощающими, рассеивающими и флуоресцентными свойствами. При их изготовлении применяются такие материалы, как каррагинан, полисахарид, агар, агароза, поливинилловый спирт, полиуретан, силикон, а также эластомерные (резиноподобные) субстанции [17, 18]. Полученные тест-объекты удовлетворяют условию стационарности и позволяют воссоздавать многослойную структуру ткани с заданными свойствами каждого отдельного слоя [19]. Применение пластичных материалов позволяет разрабатывать формы с полыми областями и твердыми включениями, например для имитации кровеносных сосудов [20] и других макронеоднородностей, встречающихся в биотканях [21]. Использование силиконовой основы, смешиваемой с глицерином, дает возможность создавать МО биотканей, обладающие собственным рассеянием, что существенно улучшает стабильность получаемых свойств [22], а применение пластичной матричной основы позволяет изготавливать композитные МО с жидкими фрагментами, например из спирторастворимого нигрозина и бычьего гемина [23], или гибкие сетчатые структуры из полиамида [24].

МО кожи и мозга на основе поливинилхлорида и силикона, показавшие свою эффективность и стабильность при верификации измерений различными методами, включая гиперспектральную визуализацию, ОКТ, лазерную спекл-контрастную визуализацию и др., ранее были описаны в работах [19, 20, 22, 25–28]. Однако такие МО имеют существенные ограничения при использовании для моделирования флуоресцентных свойств биотканей. Условия, при которых протекают процессы полимеризации (повышенная температура, использование химически активных полимеризующих веществ), приводят к разрушению либо существенному изменению свойств флуоресцентных красителей, в особенности свойств таких эндогенных флуоресцентных веществ, как никотинамидадениндинуклеотид (НАДН) и флавинадениндинуклеотид (ФАД).

В настоящей работе впервые представлены методика изготовления и основные оптические показатели нового типа МО кожи человека на основе полимеризуемого полиакриламида (ПАА), коллагена и водного раствора ФАД. ПАА представляет собой оптически прозрачный эластичный материал, обладающий хорошей временной фотостабильностью, который активно применяется в биомедицинской практике. Для моделирования базового уровня флуоресценции соединительной ткани кожи использовался коллаген, содержащийся в желатине. Твердые желатиновые МО применялись для имитации нормальных и дисплазийных состояний биоткани при

диагностике флуоресцентными методами [29, 30]. Для разработанного подхода характерно применение щадящих режимов полимеризации, не влияющих на флуоресценцию ФАД. С целью создания более плотной эластичной структуры, не подверженной плесневению, связующим материалом со стабильными термическими и химическими характеристиками служил ПАА-гель [31].

Важной особенностью создаваемого флуоресцентного МО является отсутствие собственной сколько-нибудь значимой флуоресценции ПАА в УФ и во всем видимом диапазоне. В качестве флуорофора использовался водный раствор ФАД, являющийся одним из основных флуорофоров кожи при возбуждении на длине волны 450 нм. В организме человека ФАД выполняет ключевую роль в процессах клеточного дыхания и клеточной смерти, а также в непрерывной утилизации эндогенных катехоламинов (таких как дофамин, адреналин, норадреналин и др.), являясь ко-фактором двух известных разновидностей ФАД-зависимых моноамин оксидаз, отвечающих, главным образом, за процессы дезаминирования в большинстве клеток организма. Изменение параметров флуоресценции ФАД (интенсивность, форма спектра, а также время жизни) является существенным диагностическим признаком при развитии патологий [32]. Так, например, ранее проведенные клинические исследования показывают, что изменения флуоресценции ФАД коррелируют с онкологическими процессами [33–35].

Таким образом, целью настоящей работы является создание эластичного МО, имитирующего флуоресценцию ФАД в коже, для калибровочных измерений и верификации систем регистрации эндогенной флуоресценции.

2. Материалы и методы

Изготовление модельного образца кожи. Предварительная подготовка матричной основы эластичного МО кожи человека проводилась путём перемешивания и гомогенизации порошкового желатина (0.2 г) с 20 мл дистиллированной воды до получения однородной структуры при нагреве до 40 °С в течение 15 мин. Последующая гомогенизация полученного раствора осуществлялась путём перемешивания акриламида (АА) (6 г) и бисакриламида (БАА) (0.16 г) при комнатной температуре в течение 15 мин. Для воспроизведения рассеивающих свойств в изготовленную полимерную структуру было добавлено 0.03 г оксида цинка (ZnO) [36, 37].

Для воспроизведения флуоресцентных свойств к полученной смеси добавлялся ФАД, концентрация которого в норме в организме человека варьируется от нескольких единиц до нескольких десятков мкМ на 100 г ткани [38], и они перемешивались в течение 10 мин. Были изготовлены пять вариантов МО кожи: без ФАД и с концентрациями ФАД 5, 15, 20 и 25 мкМ на 100 г материала.

Последующая полимеризация до получения эластичной светорассеивающей структуры производилась добавлением 15 мкл персульфата аммония ((NH₄)₂S₂O₈) и 2.4 мкл тетраметилэтилендиамина (ТЕМЕД).

Диффузное отражение, диффузное и коллимированное пропускания изготовленной пластичной композитной основы (рис. 1), а также основы с добавлением 15 мкМ ФАД были измерены спектрофотометром с интегрирующей сферой (Gooch & Housego, США) [39]. С помощью инверсного метода «добавления–удвоения» были рассчитаны коэффициент поглощения (μ_a) и приведенный

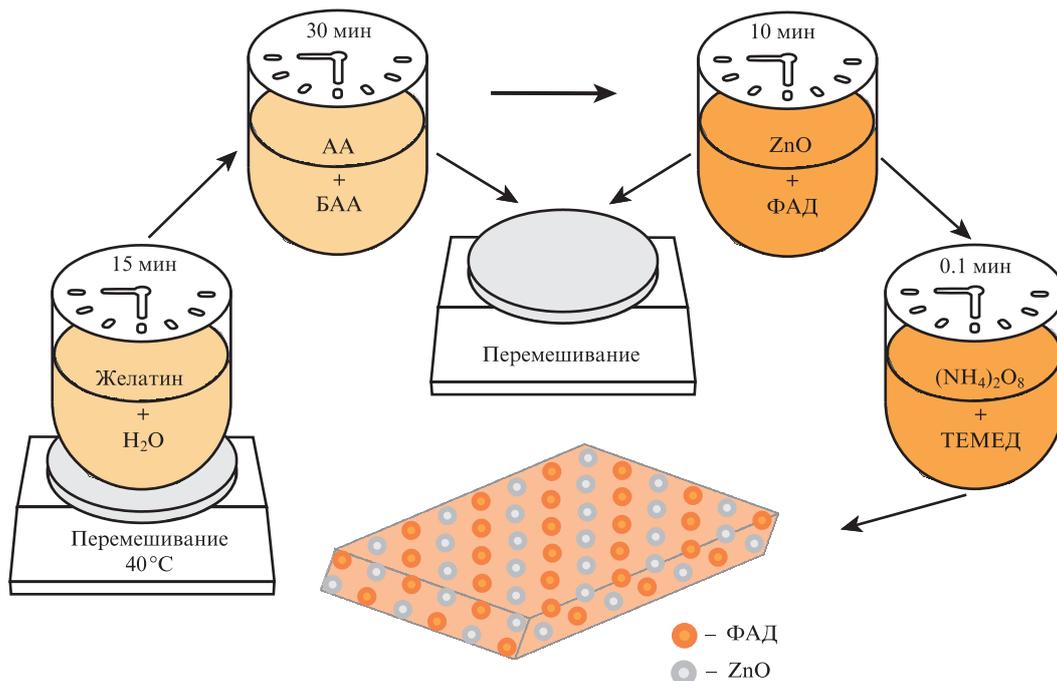


Рис.1. Последовательности основных этапов изготовления МО кожи человека на основе коллагена, ПАА-геля, оксида цинка и водного раствора ФАД, а также внешний вид пластичной композитной основы.

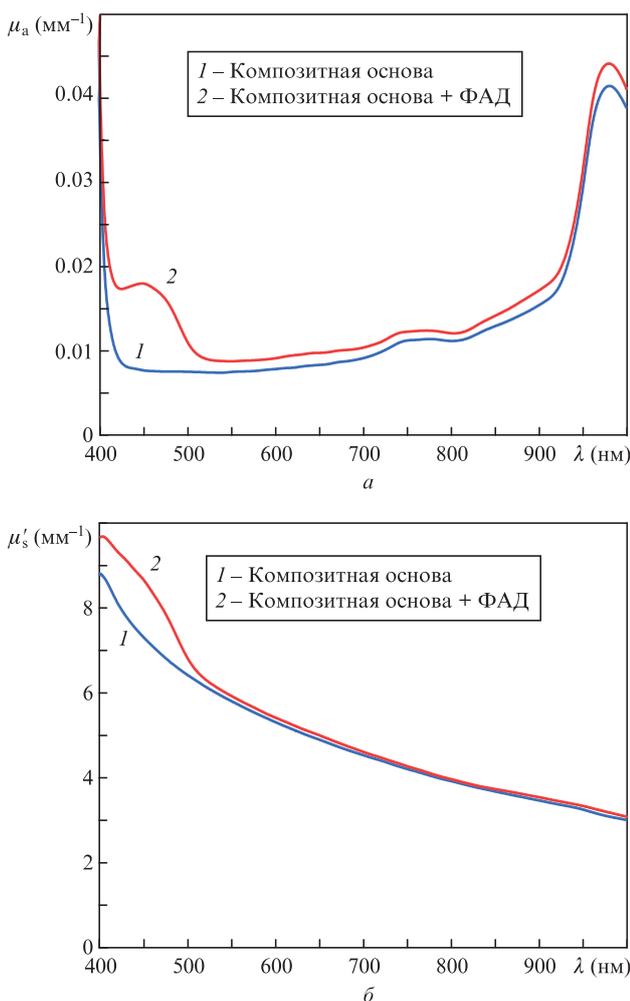


Рис.2. Зависимости коэффициентов поглощения (а) и приведенных коэффициентов рассеяния (б) изготовленной композитной основы от длины волны без ФАД и с добавлением 15 мкМ ФАД.

коэффициент рассеяния (μ'_s) в диапазоне 400–1000 нм (рис.2).

В спектрах поглощения отчетливо видны полосы поглощения воды (760 и 975 нм) и полоса поглощения ФАД (450 нм). Поскольку основной целью данной работы являлось моделирование флуоресценции, при изготовлении образцов в связующую матрицу на основе ПАА не добавлялись компоненты, обеспечивающие дополнительное поглощение, эквивалентное поглощению тканей кожи. С помощью многоволнового рефрактометра Аббе (Atago, Япония) были измерены показатели преломления n МО для различных длин волн: $n = 1.358$ (450 нм), 1.350 (589 нм), 1.348 (632 нм), 1,343 (930 нм).

Экспериментальное оборудование. Параметры флуоресценции измерялись с помощью установки, в которую входили гиперспектральная камера и ПЗС-спектрометр (рис.3). Излучение светодиода M450LP1 с длиной волны 450 нм (Thorlabs, США) проходит через полосовой фильтр MF445-45 (Thorlabs). Выделенная полоса излучения попадает на дихроичный фильтр MD416 (Thorlabs) и направляется на МО кожи, возбуждая флуоресценцию ФАД. Обратнотражённое излучение светодиода удаляется из светового потока дихроичным фильтром и светофильтром FELN0500 с длиной волны отсечки 500 нм (Thorlabs). Оставшееся излучение флуоресценции образца регистрируется гиперспектральной камерой Specim (Spectral Imaging Ltd., Финляндия) в спектральном диапазоне 400–1000 нм. В канале флуоресцентной спектроскопии спектры регистрируются с помощью оптического волокна ПЗС-спектрометром FLAME-T-VIS-NIR-ES (Ocean Optics, США) в спектральном диапазоне 350 – 820 нм.

3. Результаты и их обсуждение

Полученные гиперспектральные флуоресцентные изображения пяти изготовленных МО кожи с различной концентрацией ФАД представлены на рис.4,а. Изображения регистрировались при времени выдержки камеры



Рис.3. Установка для гиперспектральной флуоресцентной визуализации и флуоресцентной спектроскопии:

1 – гиперспектральная камера; 2 – длинноволновый эмиссионный фильтр; 3 – дихроичный фильтр; 4 – исследуемый образец; 5 – светодиодный источник; 6 – полосовой фильтр; 7 – ПЗС-спектрометр; 8 – держатель фильтров; 9 – длинноволновый эмиссионный фильтр.

500 мс и средней освещенности 0.5 мВт/см². При дальнейшем анализе значения интенсивности флуоресценции усреднялись в границах области интереса, аналогичной выделенной квадратом на рис.4,а. Для сравнения флуоресцентных свойств эластичного МО с реальным биологическим объектом были получены флуоресцентные изображения кожи пальца руки и области предплечья условно здорового испытуемого, показанные на рис.4,б и в. Данные с выделенных на них областей интереса после пространственного усреднения использовались для построения и анализа спектров интенсивности флуоресценции.

Максимальные значения интенсивности, зарегистрированные с помощью ПЗС-спектрометра, усреднялись по трем спектрам для каждого МО и сравнивались с данными, полученными с помощью гиперспектральной камеры.

На рис.5,а–в представлены нормированные спектры флуоресценции и кривые зависимости максимума интенсивности флуоресценции МО от концентрации ФАД, полученные с помощью гиперспектральной визуализации и ПЗС-спектроскопии. Спектры флуоресценции МО и кожи (рис.5,з) были отнормированы на максимальное значение флуоресценции для концентрации 25 мкМ и интенсивность флуоресценции предплечья соответственно. Интенсивность флуоресценции ФАД, зарегистрированная в канале флуоресцентной визуализации гиперспектральной камерой, изменяется пропорционально концентрации флуорофора, что также было подтверждено измерениями ПЗС-спектрометром (рис.5,в). При этом наибольшая скорость изменения интенсивности в зависимости от концентрации ФАД наблюдается в области 5–10 мкМ, что представляет наибольший интерес при моделировании свойств здоровой ткани. Полученные значения интенсивности флуоресценции оптических фантомов имеют высокую корреляционную взаимосвязь с концентрацией ФАД (коэффициент корреляции Пирсона между измерениями двумя методами $r = 0.99$, $p < 0.001$). Изменение отношения интенсивности сигнала флуоресценции к концентрации флуорофора является нелинейной функцией вследствие поглощения возбуждающего излучения флуорофором и изменения полезного объема МО/ткани, из которого регистрируется сигнал. В общем случае определение данной зависимости является нетривиальной задачей, на конечное решение которой влияют концентрация флуорофора, поглощающие и рассеивающие свойства образца, а также параметры регистрирующей системы. Спектры изготовленных МО и спектры кожи человека имеют схожие пики флуоресценции, соответствующие спектру ФАД ($\lambda_{\max} \approx 530-540$ нм) при возбуждении синим светом (450 нм). Однако форма спектров флуоресценции кожи, а также общий уровень интенсивности сигнала несколько отличаются от таковых для МО, что объясняется влиянием крови на поглощение сигнала флуоресценции кожи. При этом представленные фантомы могут быть модифицированы для учета поглощающих свойств без существенных затрат.

Более высокий начальный уровень флуоресценции (рис.5,в), полученный при измерениях с оптоволоконным ПЗС-спектрометром, без ФАД объясняется вкладом излучения в измеряемый сигнал с большей глубины объема зондирования МО. Существенное различие в интенсивностях флуоресценции кожи пальца и предплечья (рис.5,з)

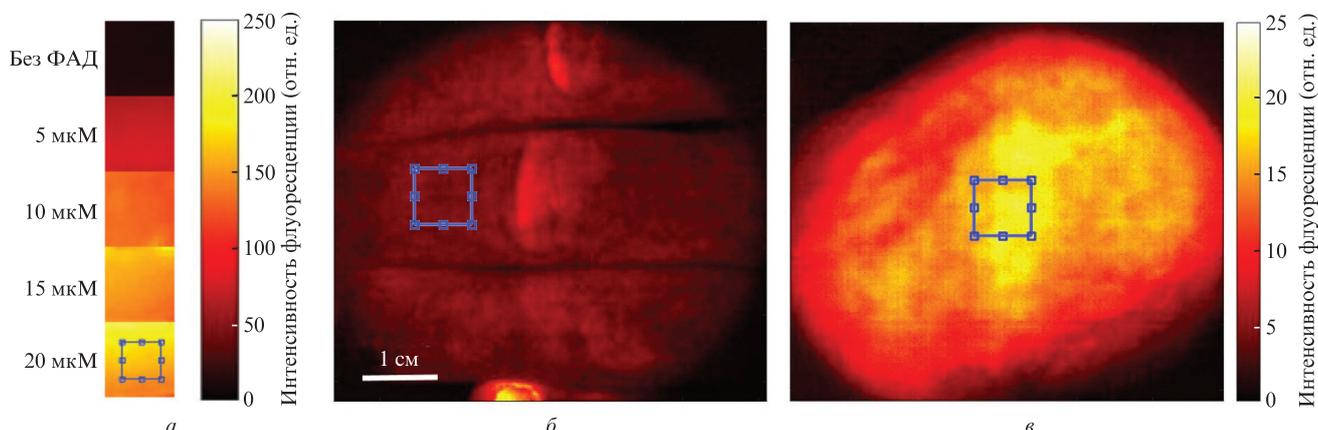


Рис.4. Флуоресцентные изображения МО (а), кожи пальцев руки *in vivo* (б) и предплечья *in vivo* (в), полученные с помощью гиперспектральной камеры на длине волны 530 нм.

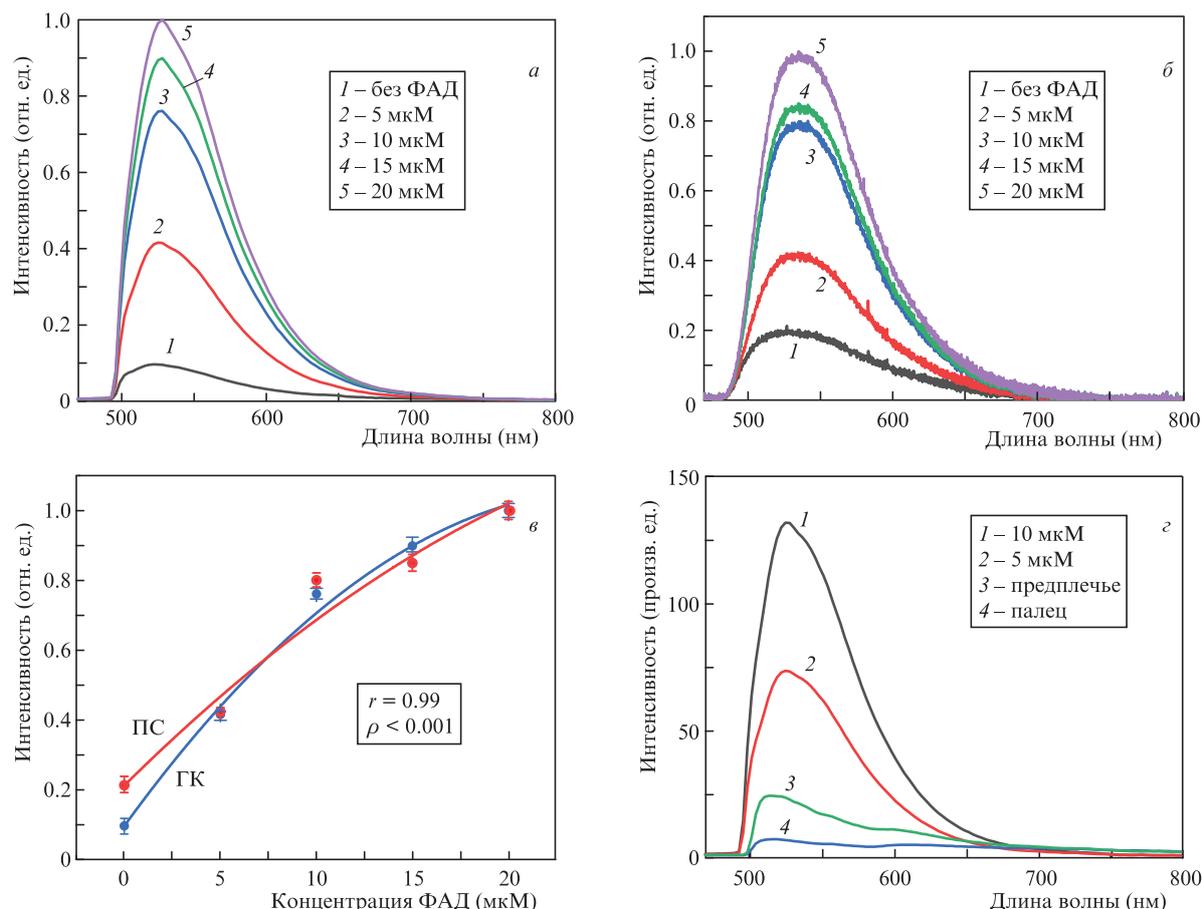


Рис.5. Спектры флуоресценции МО кожи, полученные с помощью гиперспектральной камеры (а) и ПЗС-спектрометра (б), зависимости максимума интенсивности флуоресценции МО от концентрации ФАД (в), а также полученные с помощью гиперспектральной камеры спектры максимальной флуоресценции МО при двух концентрациях ФАД и максимальной флуоресценции кожи пальца и предплечья (г); ГК – гиперспектральная камера, ПС – ПЗС-спектрометр.

обусловлено достаточно большим числом капилляров и артериоло-венулярных анастомозов в коже ладони руки [40], что существенно влияет на поглощение сигнала флуоресценции.

4. Заключение

В работе представлена методика изготовления нового типа МО кожи человека на основе ПАА, коллагена, оксида цинка и водного раствора ФАД. Основным преимуществом разработанных МО является то, что условия полимеризации ПАА не влияют на свойства флуоресценции ФАД в конечных тест-образцах. При этом изготавливаемые полимерные МО с подтвержденными рассеивающими и флуоресцентными свойствами позволяют воспроизводить спектры флуоресценции кожи в указанном диапазоне длин волн с достаточно высокой точностью. Полученная эластичная матрица МО удовлетворяет условию стационарности, необходимому для калибровочных измерений. Изготовленные формы должны храниться при температуре 4°C и влажности воздуха на уровне 90%–95%. Применение разработанной технологии изготовления МО позволит тестировать, стандартизировать и калибровать системы для флуоресцентной визуализации, а также приборы флуоресцентной спектроскопии, сопряженные с волоконно-оптическим детектированием оптического излучения. Для совершенствования и

дальнейшего развития представленной в работе методики планируется создание МО с флуорофорами, которые являются эндогенными маркерами опухолевых изменений ткани, такими как НАДН и протопорфирин IX.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проекты №18-02-00669 и 19-72-30012). А.Д. и И.М. благодарят Академию Финляндии за финансовую поддержку проектов №326204 и 325097. В.Д. благодарит программу Европейского Союза по развитию научных исследований и технологий «Горизонт 2020» в рамках грантового соглашения №839888. В.Ш. и Е.Ж. благодарят Российский научный фонд (грант №20-75-00123). Авторы также благодарны Тимо Хюваринен и Кате Лефевр (Spectral Imaging Ltd., Финляндия) за предоставленное оборудование.

1. Tuchin V.V. *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics: Vol. 1. Light-Tissue Interaction* (Bellingham, Washington: SPIE Press, 2016).
2. Pogue B.W., Patterson M.S. *J. Biomed. Opt.*, **11**, 041102 (2006).
3. Chue-Sang J., Gonzalez M., Pierre A., Laughrey M., Saytashev I., Novikova T., Ramella-Roman J. *J. Biomed. Opt.*, **24**, 030901 (2019).
4. Lamouche G., Kennedy B.F., Kennedy K.M., Bisailon C.E., Curatolo A., Campbell G., Sampson D.D. *Biomed. Opt. Express*, **3**, 1381 (2012).
5. Bonesi M., Churmakov D.Y., Meglinski I. *Measur. Sci. Technol.*, **18**, 3279 (2007).
6. Zhang T., Nazarov R., Popov A.P., Demchenko P.S., Bykov A.V., Grigorev R.O., Kuzikova A.N., Soboleva V., Zykov D.V., Meglinski I., Khodzitskiy M.K. *J. Biomed. Opt.*, **25**, 123002 (2020).

7. Leh B., Siebert R., Hamzeh H., Menard L., Duval M. A., Charon Y., Abi-Haidar D. *J. Biomed. Opt.*, **17**, 108001 (2012).
8. Sdobnov A. A., Bykov A.G., Molodij G., Kalchenko V., Jarvinen T., Popov A.K., Kordas K.I., Meglinski I. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **51**, 155401 (2018).
9. Потапова Е.В., Дрёмин В.В., Жеребцов Е.А., Подмастерьев К.В., Дунаев А.В. *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии*, **332**, 105 (2018).
10. Логинова Д.А., Сергеева Е.А., Крайнов А.Д., Агрба П.Д., Кириллин М.Ю. *Квантовая электроника*, **46**, 528 (2016) [*Quantum Electron.*, **46**, 528 (2016)].
11. Lu H., Floris F., Rensing M., Andersson-Engels S. *Materials*, **13**, 2105 (2020).
12. Luthjens L.H., Yao T., Warman J.M. *Polymers*, **10**, 1195 (2018).
13. Fajardo C., Solarte E. *J. Phys.: Conf. Ser.*, **1547**, 012026 (2020).
14. Beaulieu E., Laurence A., Birlea M., Sheehy G., Angulo-Rodriguez L., Latour M., Leblond F. *Biomed. Opt. Express*, **11**, 2052 (2020).
15. Jayarathna S., Ahmed M.F., Cho S.H. *Molec. Med. Engineering.*, **22**, 4 (2019).
16. Xie Y., Maneas E., Islam S., Peveler W., Shapey J., Xia W., Vercauteren T. *Proc. SPIE*, **10862**, 108621F (2019).
17. Anastasopoulou M., Gorpas D., Koch M., Garcia-Allende P.B., Klemm U., Karlas A., Ntziachristos V. *Proc. SPIE*, **10411**, 104110J (2017).
18. Ahmad M.S., Suardi N., Shukri A., Mohammad H., Oglat A.A., Alarab A., Makhamrah O. *J. Med. Ultrasound*, **28**, 7 (2020).
19. Wróbel M.S., Popov A.P., Bykov A.V., Kinnunen M., Jędrzejewska-Szczerska M., Tuchin V.V. *J. Innovat. Opt. Health Sci.*, **8**, 1541005 (2015).
20. Zherebtsov E., Dremin V., Popov A., Doronin A., Kurakina D., Kirillin M., Bykov A. *Biomed. Opt. Express*, **10**, 3545 (2019).
21. Daly M.J., Fleisig J., Chan H., Ferrari M., Douglas C., Wilson B.C., Irish J.C. *Proc. SPIE*, **11222**, 112220E (2020).
22. Wróbel M.S., Popov A.P., Bykov A.V., Tuchin V.V., Jędrzejewska-Szczerska M. *Biomed. Opt. Express*, **7**, 2088 (2016).
23. Gorpas D., Koch M., Anastasopoulou M., Bozhko D., Klemm U., Nieberler M., Ntziachristos V. *IEEE Transact. Biomed. Eng.*, **67**, 185 (2019).
24. Liu X., Wang R., Ma J., Zhang J., Jiang P., Wang Y., Tu G. *J. Mater. Sci. Technol.*, **11**, 9 (2020).
25. Bykov A.V., Popov A.P., Kinnunen M., Pyykari T., Priezhev A.V., Myllylä R. *Proc. SPIE*, **7376**, 73760F (2010).
26. Bykov A.V., Popov A.P., Priezhev A.V., Myllylä R. *Proc. SPIE*, **8091**, 80911R (2011).
27. Sieryi O., Popov A., Kalchenko V., Bykov A., Meglinski I. *Proc. SPIE*, **11363**, 1136312 (2020).
28. Bykov A., Zherebtsov E., Dremin V., Popov A., Doronin A., Meglinski I. *Computat. Opt. Sens. Imag.*, **3**, CW1A (2019).
29. Shupletsov V., Kandurova K., Dremin V., Potapova E., Apanaykin M., Legchenko U., Dunaev A. *J. Biomed. Photon. Eng.*, **6**, 010303 (2020).
30. Shupletsov V., Kandurova K., Stavtsev D., Stolbov A., Potapova E., Dremin D., Vinokurov A., Podmasteryev K., Dunaev A. *Proc. SPIE*, **11457**, 1145708 (2020).
31. Anugrah M.A., Suryani S., Ilyas S., Mutmainna I., Fahri A.N., Tahir D. *Radiat. Phys. Chem.*, **173**, 108878 (2020).
32. Shukla S., Singh P., Pandey P.K., Pradhan A. *Proc. SPIE*, **11363**, 113631L (2020).
33. Wu Y., Xi P., Qu J.Y., Cheung T.H., Yu M.Y. *Opt. Express*, **13**, 382 (2005).
34. Lukina M.M., Shirmanova M.V., Sergeeva T.F., Zagaynova E.V. *Modern Technol. Med.*, **8**, 113 (2016).
35. Pavlova I., Sokolov K., Drezek R., Malpica A., Follen M., Richards-Kortum R. *Photochem. Photobiol.*, **77**, 550 (2003).
36. Красников И.В., Сетейкин А.Ю., Попов А.П. *Оптика и спектроскопия*, **118**, 698 (2015) [*Opt. Spectrosc.*, **118**, 668 (2015)].
37. Wróbel M.S., Popov A.P., Bykov A.V., Kinnunen M., Jędrzejewska-Szczerska M., Tuchin V.V. *J. Biomed. Opt.*, **20**, 045004 (2015).
38. Moffitt T.P., Chen Y.C., Prah S.A. *J. Biomed. Opt.*, **11**, 041103 (2006).
39. Aliverti A., Curti B., Vanoni M.A. *Meth. Molec. Biol.*, **131**, 9 (1999).
40. Guyton A.C. *Textbook of Medical Physiology* (Amsterdam: Elsevier, 2015).