23

Взаимодействие лазерного излучения с аваскулярными биотканями в зависимости от их толщины и изменения поглощения

© Е.М. Касьяненко, А.В. Южаков, О.И. Баум

НИЦ Курчатовский институт,
Москва, Россия

e-mail: baumolga1@mail.ru

Поступила в редакцию 09.07.2025 г.
В окончательной редакции 28.07.2025 г.
Принята к публикации 25.11.2025 г.

Исследовано взаимодействие лазерного излучения ближнего ИК диапазона на длинах волн 1.56 и 1.45 μm с аваскулярными биотканями различной толщины при изменении их поглощения благодаря диффузии просветляющего агента — глицерина в растворах различного процентного содержания. Толщины образцов соотносятся с толщиной различных аваскулярных биотканей в организме: исследован диапазон от „тонких“ образцов, имитирующих барабанную перепонку, до „толстых“, соотносящихся с суставными и реберными хрящами. Толщина образцов 500 μm является „пограничной“ толщиной, относительно которой меняется динамика прошедшей интенсивности для двух длин волн 1.56 и 1.45 μm. Полученные результаты указывают на возможность управления тепловым эффектом за счет подбора длины волны и концентрации активного просветляющего агента, что существенно при определении терапевтических диапазонов параметров лазерного воздействия для биоткани.

Ключевые слова: лазер, аваскулярная биоткань, хрящ, барабанная перепонка, глицерин.

DOI: 10.21883/0000000000

1. Введение

Модификация структуры и свойств биологических тканей под действием лазерного излучения активно применяется для реконструкции биологических тканей при отсутствии разрушения и коагуляции биологического объекта. Лазерное воздействие, характеризующееся когерентностью и монохроматичностью, позволяет получать высокую степень направленности (коллимированности) лазерных пучков. Это дает возможность сфокусировать излучение на объекте, обеспечить очень хорошую избирательность воздействия на биоткани и осуществить прицельную обработку локальных областей внутри биоткани, сохраняя прилегающие структуры. Основным маркером эффективности воздействия является сохранение функциональных особенностей биоткани. Аваскулярные коллагеновые ткани, такие как хрящевая ткань и барабанная перепонка (БП), обладают рядом уникальных биомеханических и оптических свойств, что делает их актуальными объектами исследования в контексте малоинвазивной лазерной коррекции и реконструктивной хирургии. Глубина проникновения лазерного излучения ближнего инфракрасного диапазона в аваскулярные коллагеновые ткани зависит от поглощения и рассеяния тканей и является критическим параметром, обеспечивающим в различных режимах воздействия различные физико-химические процессы. В особенности, понимание взаимодействия инфракрасного лазерного излучения с коллагеновыми структурами различной толщины критично для разработки методов точечной термопластики, терморемоделирования, лазерной сварки биотканей и запуска регенеративных процессов.

Исследование клеточных механизмов регенерации хрящевой ткани показало, что термомеханическое воздействие лазерным излучением 1.56 μm оказывает выраженное усиление синтеза коллагена II типа и протеогликанов в условиях нормоксии и гипоксии. Предыдущие исследования в области регенерации суставного хряща убедительно доказали рост именно гиалинового хряща в противовес фиброзному [1–5] *in vivo* с характерными геометрическими размерами порядка миллиметра. Одновременно с этим были найдены оптимальные условия регенерации культуры хондроцитов [6–8]. Можно предположить, что именно термомеханическое лазерное воздействие может значительно стимулировать регенеративные процессы. Но чтобы этот подход срабатывал на тонких пленках типа БП, необходимы дополнительные исследования и пролонгация найденных режимов в другие диапазоны длин волн.

Длины волн 1.45 и 1.56 μm относятся к ближнему ИК диапазону и характеризуются высоким поглощением в воде — основном компоненте биологических тканей. Однако степень этого поглощения различается: при 1.45 μm оно в 3 раза больше (коэффициент поглощения 30 cm^{-1}), чем при 1.56 μm (коэффициент поглощения 10 cm^{-1}), что обусловливает разную глубину проникновения: 0.33 и 1 mm соответственно [9,10], которая коррелирует с различными среднестатистическими геометрическими параметрами аваскулярных тканей в человеческом организме и позволяет моделировать воздействие на ткань от сотен микрометров (соответствие с БП) до нескольких

миллиметров (соответствие с суставным и реберным хрящами). Это различие двух длин волн позволяет варьировать профиль нагрева, термическое распределение в ткани и, как следствие, контролировать процессы термозависимой денатурации коллагена, регенерации и локального ремоделирования тканей.

Сравнительный анализ термических и оптических изменений тканей под воздействием лазерного облучения на указанных длинах волн позволяет установить оптимальные диапазоны режимов воздействия для различных задач прецизионного медицинского вмешательства. Понимание этих процессов критически важно для повышения эффективности и безопасности лазерных медицинских технологий, включая лазерную реконструкцию хрящевой ткани, создание имплантатов заданной формы, коррекцию дефектов БП и прочие клинические приложения. Кроме того, модификация биоткани с помощью биологически активных веществ, позволяет моделировать как структурные особенности, так и оптические характеристики биоткани. Так, например, оптическое просветление позволяет расширить область применения оптической диагностики и воздействия за счет увеличения глубины оптического зондирования биологических тканей и разрешающей способности оптических методов [11–15]. Одним из наиболее исследованных активных веществ является глицерин, обладающий выраженной гигроскопичностью и способностью изменять структуру ткани за счет перераспределения воды и взаимодействия с коллагеновыми волокнами. В работе [16] было показано, что проникновение молекул глицерина в коллагеновую матрицу приводит к снижению коэффициента рассеяния за счет частичного обезвоживания ткани и уменьшения оптической неоднородности. Дополнительное моделирование механизмов оптического просветления [17] подтвердило ключевую роль осмотических и молекулярных взаимодействий в процессах упорядочивания структуры. В свою очередь, экспериментальные данные [18] показали, что воздействие глицерина сопровождается изменением оптических, весовых и геометрических свойств кожи, включая набухание за счет его гигроскопичности.

Барабанная перепонка представляет собой тонкую, полупрозрачную, аваскулярную ткань, играющую ключевую роль в передаче звуковых колебаний. При моделировании или восстановлении структуры БП в экспериментальных и клинических условиях необходимы материалы, обладающие схожими механико-акустическими свойствами. В этой связи тонкий хрящ (толщиной порядка $100-500\,\mu$m) рассматривается как перспективная модель.

Хрящ благодаря высокой стабильности и устойчивости к деформации давно используется в реконструктивной отологии. Исследования показали, что при толщине ≤ 0.5 mm акустические характеристики хрящевых трансплантатов приближаются к параметрам нативной барабанной перепонки. Так, в эксперименте Zahnert и соавторов (2000) была проведена серия акустических измерений на моделях среднего уха, где использовались хрящевые пластинки различной толщины. Установлено, что трансплантаты толщиной до $500\,\mu$m не оказывали значимого влияния на передаточную функцию [19].

Более того, исследование [20], основанное на методе лазерной виброметрии, подтвердило, что колебательные характеристики хрящевых лоскутов толщиной $0.1-0.2$ mm практически не отличались от нативной БП. Эти результаты были подтверждены численным моделированием методом конечных элементов (FEM) [21,22], где показано, что тонкие хрящевые элементы сохраняют амплитудно-частотный отклик, аналогичный перепонке, особенно при малых перфорациях.

В клиническом аспекте [23] пришли к выводу, что тонкие хрящевые трансплантаты толщиной $0.1-0.5$ mm демонстрируют высокую эффективность при тимпанопластике, обеспечивая как устойчивость конструкции, так и сохранение слуховой функции. В обзоре литературы сообщается, что при использовании хрящевых лоскутов [24] их акустические свойства при адекватной толщине практически не уступают фасциальным трансплантатам с преимуществом в биомеханической устойчивости, а вариация толщины образцов в диапазоне менее 1mm не влияет на акустический прирост [25,26].

Таким образом, тонкие образцы аваскулярного хряща (в диапазоне $100-500\,\mu$m) демонстрируют близкие к барабанной перепонке механические и акустические свойства и могут обоснованно использоваться как экспериментальная модель БП при *in vitro* исследованиях лазерного воздействия, виброметрии, моделировании и тестировании реконструктивных методик.

Задача данной работы — исследовать влияние просветляющего агента — глицерина различного процентного содержания на взаимодействие лазерного излучения с биотканями разных толщин, соотносящихся с толщиной различных аваскулярных биотканей в организме: от „тонких“ образцов, имитирующих барабанную перепонку, до „толстых“, соотносящихся с суставными и реберными хрящами.

2. Материалы и методы

В данной работе используется свиной реберный хрящ в качестве модели аваскулярной коллагеновой ткани. Его гомогенность, доступность и морфологическое сходство с человеческими структурами, такими как барабанная перепонка и суставной хрящ, делают его оптимальной экспериментальной моделью. „Тонкие“ образцы ($100-500\,\mu$m), имитирующие барабанную перепонку, позволяют оценить поверхностные эффекты и термические повреждения, тогда как более „толстые“ образцы (от 1 mm и более) отражают поведение объемных хрящевых структур при глубоком прогреве.

Исследования оптических свойств проводились на образцах биоткани зрелой свиньи (возрастом 8–9 месяцев). Свежий биоматериал получали непосредственно с бойни после забоя животных и

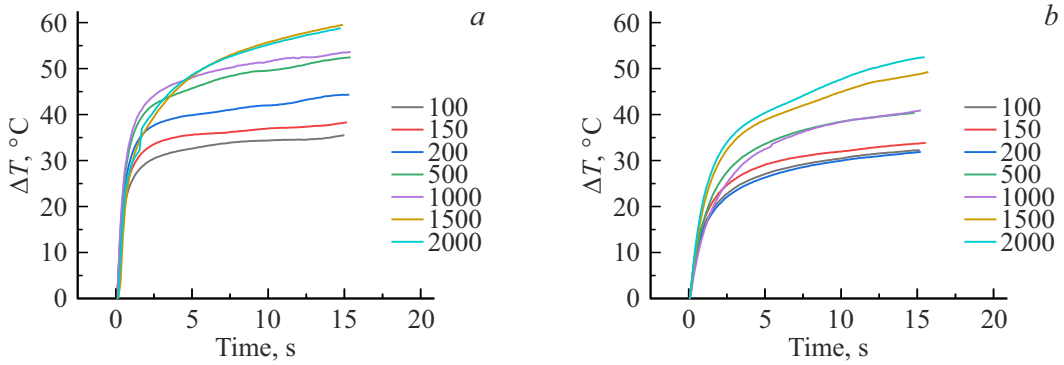

Рис. 1. Усредненный температурный отклик образцов различной толщины на лазерное воздействие длиной волны 1.45 (*a*) и 1.56 μm (*b*).

хранили при температуре −18 °C. Перед проведением эксперимента образцы размораживали и разрезали на пластины различной толщины: 100, 150, 200, 500, 1000, 1500 и 2000 μm (минимум по три образца каждой толщины). Из них с помощью пуансона вырезали диски диаметром 10 mm, которые хранили в физиологическом растворе для предотвращения высыхания. Нарезка ткани проводилась с помощью криомикротома MCM-2850 (MT Point, Россия).

В ходе эксперимента образцы ткани подвергались лазерному воздействию на длинах волн 1.45 μm (Lahta Milon, Россия) и 1.56 μm (Ирэ-полюс, Россия). Излучение подавалось через оптоволокно (диаметр 600 μm) по нормали к поверхности образца. Длительность облучения 15 s, плотность мощности составляла 5–10 W/cm^2 для длины волны 1.45 μm и 20–25 W/cm^2 для длины волны 1.56 μm при эффективном радиусе площади воздействия 1 mm. Температура передней поверхности образца со стороны воздействия контролировалась ИК камерой FLIR A600 (FLIR Systems Inc, США). Прошедшее излучение попадало в интегрирующую сферу для последующей регистрации спектрометром ATP8000 Optosky (Optosky Spectroscopy Solutions, Китай).

Интактные образцы подвергались лазерному воздействию с терапевтической мощностью, достаточной для достижения нагрева тканей на 30 °C для образцов с толщиной 100 μm. После первого этапа облучения образцы помещались на 2 min в физиологический раствор, а затем на 90 min в растворы глицерина различной концентрации (35 и 50 % для тонких образцов и 10, 25, 35, 50 и 100 % по массе для образцов толщиной от 1 mm). После пропитки образцы снова подвергались такому же лазерному воздействию. Эти измерения позволяли оценить влияние концентрации глицерина на изменение оптических свойств ткани при лазерном нагреве.

Для исследования обратимости изменений после эксперимента образцы помещались в физиологический раствор на 90 min. После этого проводилось повторное лазерное облучение. Таким образом, изучалась возможность восстановления первоначальных оптических характеристик ткани при удалении глицерина с помощью вымачивания.

Данный протокол позволил комплексно оценить динамику изменений оптических свойств тканей различной толщины под воздействием глицерина и лазерного нагрева, а также проверить стабильность этих изменений и их потенциальную обратимость. Полученные данные имеют значение для разработки методов управления оптическими свойствами тканей в лазерной терапии и диагностике и подборе режимов воздействия на биоткани различной толщины.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Нагрев интактных образцов

Экспериментальные данные демонстрируют температурный отклик образцов различной толщины при лазерном воздействии на длинах волн 1.45 и 1.56 μm. В обоих случаях регистрировался рост максимальной температуры на передней поверхности образца с увеличением толщины материала, однако характер зависимости и абсолютные значения температур различаются (рис. 1).

Для длины волны 1.45 μm наблюдается устойчивый рост максимальной температуры с увеличением толщины. Температурные кривые выходят на плато уже к $\sim$ 30–50 °C, что свидетельствует о быстром достижении стационарного теплового состояния. Для образцов толщиной 1500 и 2000 μm максимальные температуры достигали $\sim$ 60 °C и динамика роста максимальной температуры совпадала в пределах ошибки эксперимента, а температурный рост в начальный момент был меньше, чем для более тонких образцов.

Для длины волны 1.56 μm общая форма кривых схожа, но начальная динамика роста максимальной температуры более пологая. Зависимость максимальной температуры нагрева поверхности от толщины образца для этой длины волны более монотонна благодаря меньшему коэффициенту поглощения и соответственно более равномерному прогреву по глубине. Если подобрать такие

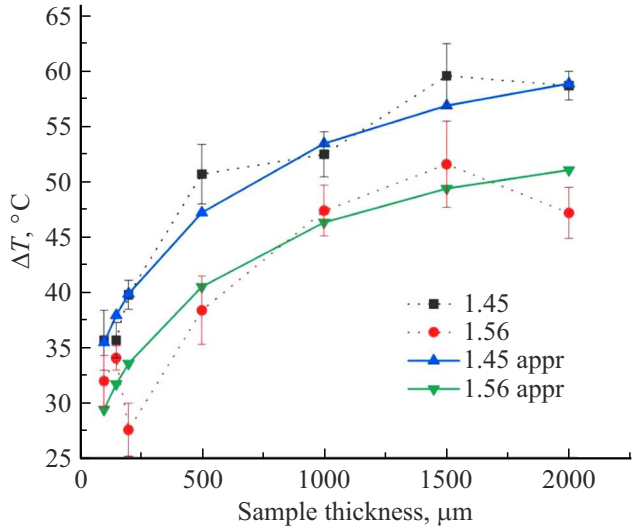

Рис. 2. Разница в нагреве между образцами одинаковой толщины для двух длин волн.

мощности облучения, при которых образец толщиной 100 μm дает одинаковый нагрев для двух разных длин волн, то аналогичный нагрев образцов других толщин даст меньшие абсолютные значения температур при нагреве лазером с длиной волны 1.56 μm по сравнению с 1.45 μm (рис. 2).

Например, при толщине 1000 μm для облучения с длиной волны 1.56 μm нагрев не превышает 40 °C, тогда как при 1.45 μm он составляет около 50 °C.

Проведенный анализ температурного отклика коллагеновых тканей различной толщины, подвергнутых лазерному облучению с длинами волн 1.45 и 1.56 μm, показал возможность аппроксимации экспериментальных результатов с помощью суммы линейной и степенной функций с показателями степени 0.45÷0.48. Такая аппроксимация позволит в эксперименте *in vivo* при невозможности неинвазивного определения температуры и при разбросе толщины реального биологического образца (например, БП с различной толщиной в середине и у края фиброзного кольца) знать степень нагрева, понимать, в каком температурном диапазоне идет воздействие и не допустить перегрева ткани.

3.2. Влияние толщины образцов на их нагрев

Пропитка глицерином оказывает существенное влияние на температурный отклик материала при лазерном облучении, при этом наблюдается выраженная зависимость от длины волны, толщины образца и концентрации глицерина (табл. 1). На длине волны 1.45 μm глицерин способствует усиленному нагреву во всем диапазоне толщин, особенно при концентрации 50 %. Это может быть связано с увеличением коэффициента поглощения и снижением отражения и преломления на внутренних границах биоткани [27,28], за счет замещения внутриматриксной жидкости раствором глицерина, чей показатель преломления ближе к показателю преломления самого матрикса [29].

Таблица 1. Среднее изменение нагрева образцов (в % относительно нагрева интактного образца до пропитки) при пропитке их в 35 и 50 % растворе глицерина в течение 90 min

Толщина образца, μm	Длина волны лазерного излучения, μm			
	1.45		1.56	
	35 %	50 %	35 %	50 %
100	38 ± 16	35 ± 5	−10 ± 2	7 ± 12
150	22 ± 5	24 ± 20	4 ± 8	5 ± 4
200	6 ± 8	22 ± 6	−10 ± 6	27 ± 20
500	22 ± 3	12 ± 3	12 ± 7	14 ± 2
1000	30 ± 14	47 ± 3	21 ± 8	40 ± 8
1500	8 ± 7	18 ± 1	21 ± 10	30 ± 8
2000	12 ± 2	20 ± 6	24.5 ± 8.6	38 ± 14

Изменение нагрева для образцов толщиной 1500 и 2000 μm составляет ∼ 10 %÷20 %, в то время как эффект пропитки для более тонких образцов толщиной 500 и 1000 μm проявляется сильнее, и изменение нагрева достигает ∼ 25 %÷50 %.

На длине волны 1.56 μm при малых толщинах влияние глицерина слабо выражено, а в некоторых случаях наблюдается даже снижение нагрева, что обусловлено более низким поглощением и перераспределением энергии на большую глубину ткани. Лишь при толщине более 500 μm эффект от пропитки глицерином увеличивает рост температуры. Эти результаты указывают на возможность тонкой настройки теплового эффекта за счет подбора длины волны и концентрации активного просветляющего агента.

3.3. Влияние концентрации глицерина на нагрев и оптический отклик „толстых“ образцов

На графиках температурного отклика для „толстых“ образцов наблюдается значительное увеличение температуры, достигающее в ряде случаев ∼ 50 °C для интактных образцов и ∼ 70 °C для образцов после пропитки глицерином. Такой уровень теплового воздействия может привести к изменению физико-химических свойств ткани, включая повышение пластичности, а в некоторых случаях — к начальным проявлениям денатурации коллагеновых структур. С целью исключения из рассмотрения фазового перехода второго рода в дальнейших экспериментах мощность лазерного излучения снижалась таким образом, чтобы максимальное изменение температуры не превышало 40 °C. Эксперименты проводились для двух групп образцов одинаковой толщины (для лазера с длиной волны 1.45 μm — 1.7 ± 0.1 mm, для 1.56 μm — 2.0 ± 0.1 mm, в эксперименте использовалось минимум пять образцов в каждой группе). Концентрация

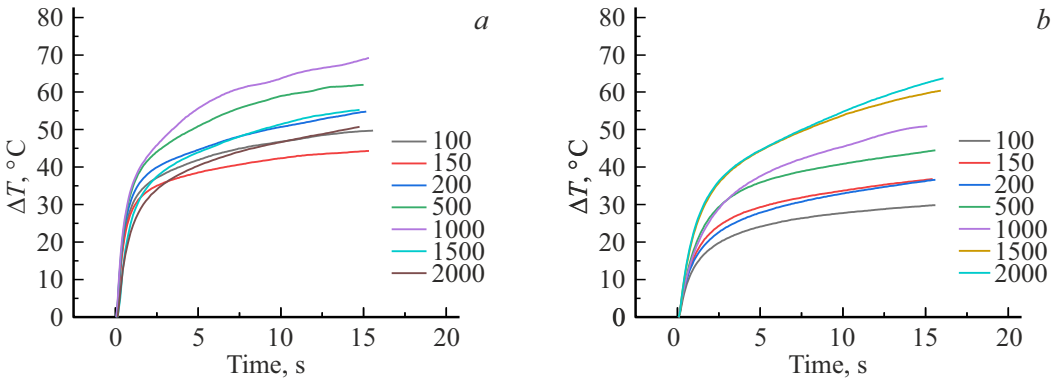

Рис. 3. Усредненный температурный отклик образцов при лазерном воздействии на длинах волн 1.45 (*a*) и 1.56 μm (*b*) после пропитки их 35% раствором глицерина, для разной толщины образцов.

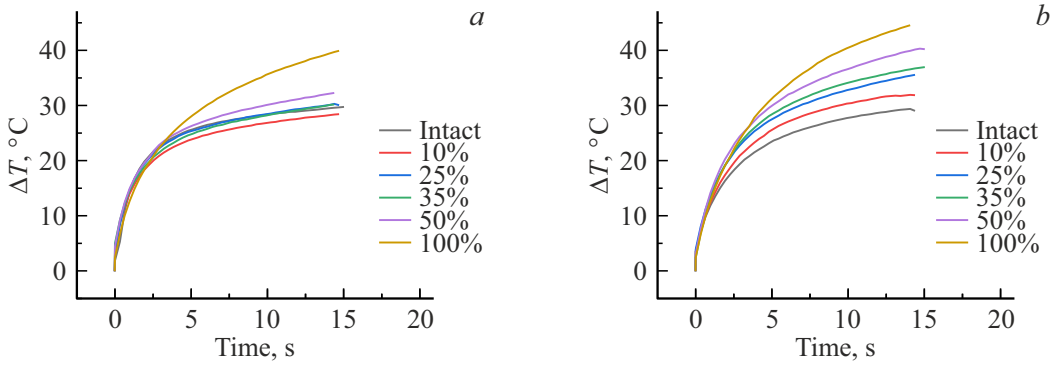

Рис. 4. Усредненный температурный отклик образцов при лазерном воздействии на длинах волн 1.45 (*a*) и 1.56 μm (*b*) после пропитки их раствором глицерина различной концентрации.

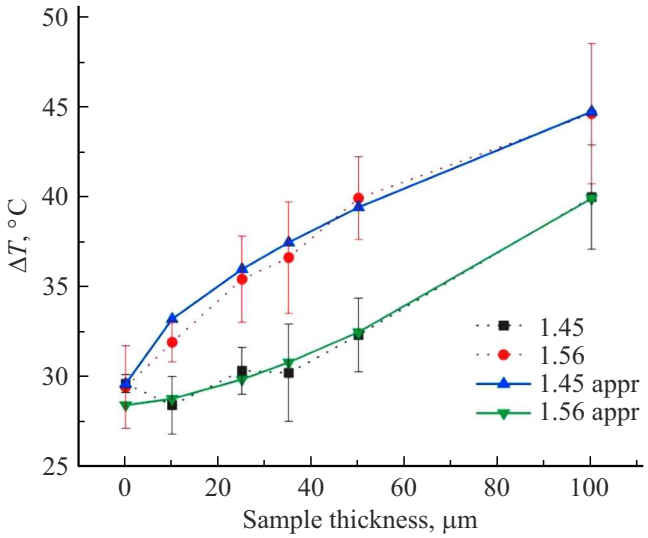

Рис. 5. Зависимость нагрева образцов одной толщины при лазерном воздействии с длиной волны 1.45 и 1.56 μm от концентрации глицерина при пропитке в течение 90 min.

глицерина в растворах была выбрана следующая: 10, 25, 35, 50 и 100%.

Результаты эксперимента показали рост температуры образцов с соответствующим увеличением концентрации глицерина для длины волны 1.56 μm (рис. 4). Этот эффект обусловлен усилением поглощения излучения в биоткани за счет изменений оптических свойств, вызванных диффузией глицерина. Экспериментальные данные хорошо аппроксимируются комбинацией линейной и степенной функциями с показателями степени 0.63 для длины волны 1.56 μm и 1.5 для длины волны 1.45 μm (рис. 5).

Продемонстрированное в настоящей работе повышение температуры при лазерном воздействии на образцы, пропитанные растворами глицерина, согласуется с ранее полученными данными о термическом эффекте при использовании фруктозо- и глицерин-содержащих сред [30] на образцах хрящевой ткани толщиной 1 mm. Известно, что теплопроводность водных растворов глицерина и фруктозы примерно на 30% ниже по сравнению с чистой водой [31,32]. Снижение теплопроводности ограничивает эффективность отвода тепла от зоны лазерного воздействия, что, в свою очередь, способствует накоплению тепловой энергии и, как следствие, приводит к более выраженному локальному нагреву ткани.

Показатель степенной функции, использованной для аппроксимации, меньше единицы для длины волны

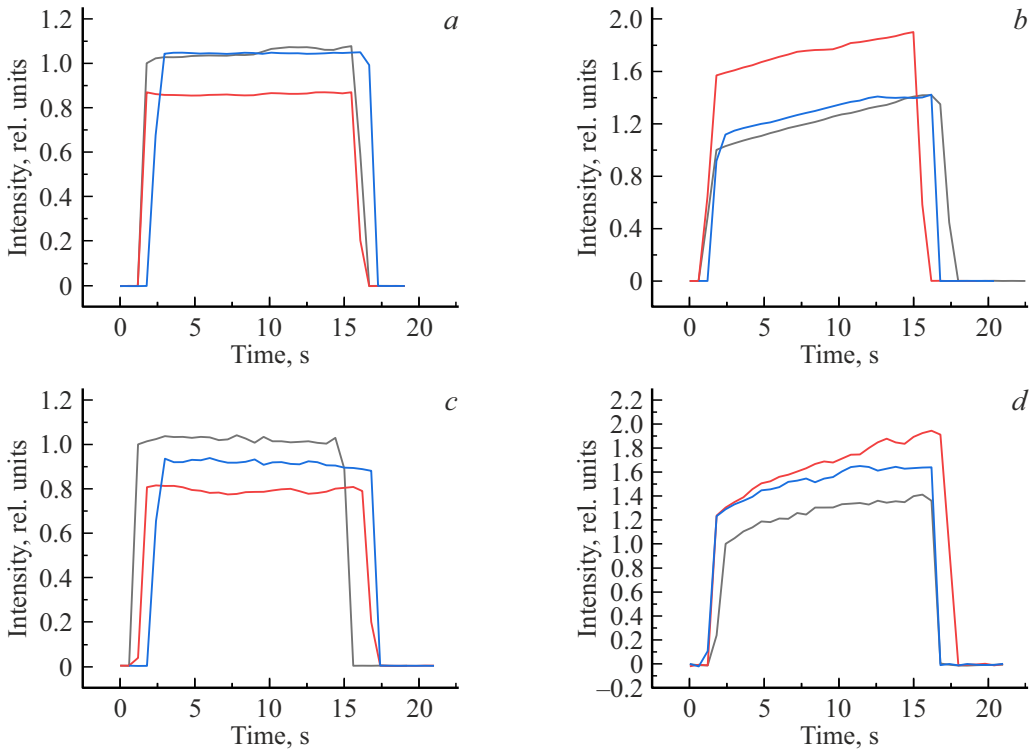

Рис. 6. Изменение пропускания света с длиной волны 1.45 (*a, b*) и 1.56 μm (*c, d*) образцами толщиной 100 (*a, c*) или 1000 μm (*b, d*) света при пропитывании их 50 % водным раствором глицерина. Черная кривая — интенсивность интактного образца, красная кривая — интенсивность после оптического просветления, синяя кривая — после удаления просветляющего агента. Все кривые нормированы на начальное значение интенсивности при включении лазерного излучения.

Таблица 2. Изменение интенсивности (ΔI) прошедшего света через образец за время лазерного воздействия в процентах для двух длин волн до и после пропитки их водными растворами глицерина двух концентраций (35 и 50 %)

Толщина образца, μm	Длина волны лазерного излучения, μm					
	1.45			56		
	До пропитки	35 %	50 %	До пропитки	35 %	50 %
100	5.6 ± 1.7	3 ± 2	0 ± 5	-1.5 ± 2.4	0.1 ± 3.7	-0.5 ± 0.7
150	6 ± 3	7 ± 5	3 ± 2	-1.5 ± 3.4	2.2 ± 2.9	1.6 ± 5.6
200	7 ± 8	0 ± 9	1 ± 1	-3.5 ± 6.0	-3.8 ± 7.5	2.4 ± 4.7
500	27 ± 11	11 ± 1	3 ± 4	20 ± 10	17 ± 6	17 ± 6
1000	33 ± 9	25 ± 4	16 ± 3	31 ± 8	27 ± 12	50 ± 9
1500	59 ± 6	24 ± 8	16 ± 3	32.5 ± 6	49 ± 7	33 ± 7
2000	61 ± 14	31 ± 2	19 ± 2	29 ± 3	35 ± 4	38 ± 2

1.56 μm и свидетельствует о насыщаемом характере взаимодействия глицерина с тканью как для „толстых“, так и для „тонких“ образцов: начальный рост температуры при повышении концентрации сменяется тенденцией к насыщению и возможному снижению при высоких концентрациях. В то же время для длины волны 1.45 μm, наблюдалась как положительная, так и отрицательная первая производная динамики роста температуры (рис. 5), что может быть связано с большим разбросом эффективных оптических и термических характеристик образцов биоткани на малой характерной глубине проникновения лазерного излучения 1.45 μm, влияющих как на неравномерное поглощение лазерного излучения, так и на процесс теплопроводности в глубине ткани.

3.4. Изменение пропускания света при лазерном воздействии

Изменение пропускания излучения с длинами волн 1.45 μm и 1.56 μm образцами тканей в ходе их пропитывания водным раствором глицерина представлено

на рис. 6. Динамика интенсивности прошедшего лазерного излучения нормирована на начальное значение интенсивности, измеренное при включении лазерного излучения.

Эксперименты проводились в оптической конфигурации „волокно-сфера“, где лазерное излучение подавалось на образец через оптическое волокно, а собранный прошедший сигнал регистрировался с помощью интегрирующей сферы. Такая схема обеспечивала высокую точность измерений, позволяя получить полную картину интенсивности и распределения прошедшего сигнала. Толщина исследуемых образцов и мощность лазерного излучения, а также прочие параметры нагрева соответствовали эксперименту по изменению температуры в разд. 3.3.

В ходе экспериментов было выявлено различие в динамике интенсивности прошедшего через образец света при толщине образцов менее и более $500\,\mu$m. Для образцов толщиной менее $500\,\mu$m изменения прошедшего излучения (ΔI) в процессе облучения практически не наблюдаются. Напротив, при толщине свыше $500\,\mu$m регистрируется существенный рост ΔI в процессе воздействия, причем характер изменения различается для длин волн $1.45\,\mu$m и $1.56\,\mu$m. Точные значения изменения интенсивности (ΔI) в процентах относительно начального значения за время лазерного воздействия представлены в табл. 2.

Анализ данных, представленных в табл. 2, показывает, что величина ΔI после пропитки образцов растворами глицерина демонстрирует различную зависимость от длины волны лазерного излучения. В частности, для образцов, облучаемых на длине волны $1.45\,\mu$m, наблюдается снижение ΔI по сравнению с исходным состоянием при пропитке ткани глицерином. В то же время для длины волны $1.56\,\mu$m ΔI либо увеличивается, либо остается в пределах экспериментальной погрешности.

Выводы

Полученные результаты указывают на возможность управления тепловым эффектом за счет подбора длины волны и концентрации активного просветляющего агента. Толщина образцов $500\,\mu$m является „пограничной“ толщиной, относительно которой меняется динамика прошедшей интенсивности для двух длин волн 1.56 и $1.45\,\mu$m ближнего ИК диапазона. Таким образом, динамики изменения как интенсивности, так и максимальной температуры определяются как оптическими свойствами, которые могут моделироваться активными просветляющими агентами, так и толщиной облучаемого образца, что существенно при определении терапевтических диапазонов параметров лазерного воздействия для биоткани, сравнимой с толщиной суставного и реберного хряща, и для хрящеподобных тонких пленок — аналогов БП.

Финансирование работы

Исследование выполнено в рамках государственного задания НИЦ „Курчатовский институт“ в части исследования просветляющих агентов на образцах аваскулярной ткани толщиной от 1 mm и в рамках гранта РНФ № 25-15-00341 в части исследования лазерного воздействия на тонкие аваскулярные ткани.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

[1] Y.M. Alexandrovskaya, O.I. Baum, A.V. Yuzhakov, V.M. Svistushkin, A.V. Buzmakov, Yu.S. Krivonosov, B.S. Roshchin, D.A. Zolotov. Lasers Surg. Med., **53** (2), 275–283 (2021). DOI: 10.1002/lsm.23266

[2] V.Y. Zaitsev, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, G.V. Gelikonov, D.V. Shabanov, A.A. Sovetsky, A.I. Omelchenko, O.I. Baum, A. Vitkin, E.N. Sobol. Proc. SPIE, **10496**, 104960–104965 (2018). DOI: 10.1117/12.2289777

[3] E.N. Sobol, O.I. Baum, A.B. Shekhter, A.V. Guller. J. Biomed. Opt., **22** (9), 091515 (2017). DOI: 10.1117/1.JBO.22.9.091515

[4] O.I. Baum, Yu.M. Soshnikova, A.I. Omelchenko, E.N. Sobol. Proc. SPIE, **8595**, 85951K (2013). DOI: 10.1117/12.2008536

[5] E.N. Sobol, A.B. Shekhter, A.V. Guller, O.I. Baum, A.V. Baskov. J. Biomed. Opt., **16** (8), 080902 (2011).

[6] Yu.M. Alexandrovskaya, O.I. Baum, A.B. Shekhter, E.V. Petersen, O.A. Tiflova, A.K. Dmitriev, V.A. Ulyanov, V.M. Svistushkin, L.V. Selezneva, E.N. Sobol. Laser Phys. Lett., **15**, 085601 (2018). DOI: 10.1088/1612-202X/aac746

[7] Yu.M. Soshnikova, O.I. Baum, E.M. Shcherbakov, A.I. Omelchenko, A.B. Shekhter, V.V. Lunin, E.N. Sobol. Lasers Surg. Med., **47** (3), 243–251 (2015).

[8] E.N. Sobol, N.N. Vorobieva, O.I. Baum, A.B. Shekhter, A.V. Guller. Lasers Surg. Med., **43** (S23), 911 (2011).

[9] K.F. Palmer, D. Williams. J. Opt. Soc. Am., **64** (8), 1107–1110 (1974).

[10] V.N. Bagratashvili, E.N. Sobol, A.B. Shekhter (eds.). *Laser Engineering of Cartilage* (Fizmatlit, Moscow, 2006), 486 p.

[11] V.V. Tuchin, D. Zhu, E.A. Genina (eds.). *Handbook of Tissue Optical Clearing: New Prospects in Optical Imaging* (CRC Press, Boca Raton, 2022).

[12] E.A. Genina, A.N. Bashkatov, Yu.P. Sinichkin, I.Y. Yanina, V.V. Tuchin. J. Biomed. Photonics Eng., **1** (1), 22–58 (2015).

[13] V.D. Genin, D.K. Tuchina, A.J. Sadeq, E.A. Genina, V.V. Tuchin, A.N. Bashkatov. J. Biomed. Photonics Eng., **2** (1), 010303 (2016).

[14] H.A. MacKenzie, H.S. Ashton, S. Spiers, Y. Shen, S.S. Freeborn, J. Hannigan, P. Rae. Clin. Chem., **45** (9), 1587–1595 (1999).

[15] G.B. Christison, H.A. MacKenzie. Med. Biol. Eng. Comput., **31**, 284–290 (1993).

[16] J.M. Hirshburg, K.M. Ravikumar, J.H. Hwang, A.T. Yeh. J. Biomed. Opt., **15** (5), 055002 (2010).

[17] K.V. Berezin, M.K. Berezin, S.A. Likhachev, N.Y. Shilyagina, K.N. Dvoretskiy. J. Mol. Model., **24** (2), 45 (2018).

[18] V.D. Genin, S.N. Churbanov, V.V. Dremin, V.V. Sidorov, E.V. Potapova, A.V. Dunaev, I.V. Meglinski. J. Innov. Opt. Health Sci., **14** (5), 2142006 (2021).
[19] T. Zahnert, K.B. Hüttenbrink, D. Mürbe, M. Bornitz. Audiol. Neurootol. (2000).
[20] A.A. Aarnisalo, J.T. Cheng, M.E. Ravicz, J.J. Rosowski. Otol. Neurotol. (2009).
[21] C.F. Lee, L.P. Hsu, P.R. Chen, Y.F. Chou, J.H. Chen, T.C. Liu. Audiol. Neurootol., **11** (6), 380–388 (2006).
[22] C.F. Lee, J.H. Chen, Y.F. Chou, L.P. Hsu, P.R. Chen, T.C. Liu. Laryngoscope, **117** (4), 725–730 (2007).
[23] D. Mürbe, T. Zahnert, M. Bornitz, K.B. Hüttenbrink. Laryngoscope, **112** (10), 1769–1776 (2002).
[24] T. Yang, X. Wu, X. Peng, Y. Zhang, S. Xie, H. Sun. Acta Otolaryngol., **136** (11), 1085–1090 (2016). DOI: 10.1080/00016489.2016.1195013
[25] W. Abdelhameed, I. Rezk, A. Awad. Braz. J. Otorhinolaryngol., **83** (5), 507–511 (2017). DOI: 10.1016/j.bjorl.2016.06.005
[26] S. Vadiya, S. Bhatt. Indian J. Otolaryngol. Head Neck Surg., **68** (1), 30–33 (2016). DOI: 10.1007/s12070-015-0830-y
[27] V.V. Tuchin. J. Biomed. Photonics Eng., **1**, 98–134 (2015).
[28] E.A. Susaki, H.R. Ueda. Cell Chem. Biol., **23**, 137–157 (2016).
[29] S. Johnsen, E.A. Widder. J. Theor. Biol., **199**, 181–198 (1999).
[30] Y.M. Alexandrovskaya, O.I. Baum, A.B. Shekhter, E.N. Sobol. J. Biophotonics, **11** (2), e201700105 (2018).
[31] *Physical Properties of Glycerine and Its Solutions* (Glycerine Producers' Association, N.Y., 1963), p. 14.
[32] Y. Muramatsu, A. Tagawa, T. Kasai. Food Sci. Technol. Res., 11 (3), 288 (2005).