

Лазерная спекл-визуализация микроциркуляции крови в коре головного мозга лабораторных крыс при стрессе

М.А.Виленский, О.В.Семячкина-Глушковская, П.А.Тимошина, Я.В.Кузнецова, И.А.Семячкин-Глушковский, Д.Н.Агафонов, В.В.Тучин

Представлены результаты экспериментальной апробации метода лазерной спекл-визуализации полного поля для мониторинга изменений состояния микроциркуляции крови в коре головного мозга лабораторных крыс при развитии инсульта и введении сосудорасширяющих и сосудосуживающих агентов. Были проведены исследования по выбору оптимальных условий формирования и регистрации спекл-изображений и создано программное обеспечение, реализующее адаптивный алгоритм обработки результатов измерений. Передача лазерного излучения к зондируемому участку биоткани осуществлялась с помощью кварц-полимерного волоконного световода. Обсуждены проблемы и перспективы спекл-визуализации церебральной микроциркуляции крови в лабораторных и клинических условиях.

Ключевые слова: лазерные спеклы, метод полного поля, контраст спекл-изображений, адаптивный алгоритм, микроциркуляция, церебральный кровоток.

1. Введение

С развитием методов лазерной доплеровской флуометрии [1–4], доплеровской оптической когерентной томографии [5], интравитальной микроскопии [6], магнитно-резонансной томографии и ангиографии [7], транскраниальной доплерографии [8] и др. появилась возможность исследования состояния сосудистой системы и микроциркуляции крови в реальном времени. Многие из перечисленных методов имеют ряд существенных ограничений, например недостаточно высокое пространственное и временное разрешение, ограниченность информации о потоке частиц, особенно при сканировании по глубине биоткани, некоторая инвазивность измерений и др. В настоящее время к наиболее эффективным диагностическим методам определения основных параметров микроциркуляции относятся методы, основанные на динамическом рассеянии света (лазерная доплеровская флуометрия (ЛДФ)) [1–4], диффузионно-волновая спектроскопия [9, 10], спекл-визуализация [11–15]) и методы компьютерной биомикроскопии [6, 14, 16].

Следует отметить, что в современной медицине при изучении системы кровообращения вопросы, связанные с исследованием механизмов микроциркуляции крови в норме и патологии, являются основными [17, 18], поскольку именно микроциркуляция обеспечивает доставку кислорода и других необходимых веществ к отдельным органам и тканям, а также удаление продуктов метаболизма.

В настоящей работе исследование динамики капиллярного кровотока проведено методом спекл-коррелометрии

полного поля [11–15], поскольку он является неинвазивным бесконтактным методом, позволяющим в режиме реального времени визуализировать капиллярный кровоток без сканирования лазерного пучка. Спекл-коррелометрия полного поля решает задачу визуализации микроциркуляции путем исследования пространственной статистики усредненных по времени спеклов, в частности путем анализа пространственного контраста спекл-картины. Метод позволяет проводить исследования нестационарных рассеивающих объектов со сложной динамикой, поскольку обладает большим разрешением по времени по сравнению с методом анализа временного контраста спекл-картины, где значения контраста вычисляются по нескольким последовательно получаемым изображениям.

В классическую схему, реализующую метод спекл-коррелометрии полного поля [12–15], были внесены важные изменения, позволяющие более эффективно проводить мониторинг церебрального кровотока. Так, для визуализации капилляров вместо «традиционного» фотообъектива использовался микрообъектив, а для подведения зондирующего излучения к исследуемой зоне – кварц-полимерный волоконный световод. При проведении экспериментов с лабораторными животными *in vivo* часто возникают ситуации, затрудняющие проведение измерений. К ним можно отнести рефлекторные движения животного, изменение оптических свойств биоткани, например вследствие отека, и т. д. Для частичной компенсации возникающих помех был создан автоматизированный алгоритм настройки параметров цифровой камеры, встроенный в разработанную программу анализа контраста.

В работе представлены результаты исследования церебрального кровотока лабораторных крыс в условиях развития инсульта, вызванного стрессом, и при введении сосудорасширяющих и сосудосуживающих агентов.

2. Материалы и методы

2.1. Метод моделирования инсульта

Применялся метод моделирования инсульта путем стрессирования [19], когда у подопытного животного про-

М.А.Виленский, О.В.Семячкина-Глушковская, П.А.Тимошина, Я.В.Кузнецова, И.А.Семячкин-Глушковский, Д.Н.Агафонов. Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83

В.В.Тучин. Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; Институт проблем точной механики и управления РАН, Россия, 410028 Саратов, ул. Рабочая, 24; University of Oulu, P.O. Box 4500, Oulu FIN-90014, Finland; e-mail: tuchinvv@mail.ru

исходит кровоизлияние с последующим нарушением микроциркуляции крови коры головного мозга. Для контролируемого изменения скорости кровотока всем животным внутривенно, с помощью катетера, вводились сосудорасширяющие или сосудосуживающие агенты.

2.2. Метод измерений

Метод спекл-коррелометрии полного поля – простой и высокоэффективный метод, применяемый для визуализации кровотока, был предложен в середине 90-х годов прошлого века и получил название LASCA (LAsER Speckle Contrast Analysis). Он основан на близости значений статистических моментов пространственно-временных флуктуаций интенсивности эргодических и статистически однородных спекл-полей, оцениваемых путем усреднения во времени и в пространстве [12–15, 20–27].

Для мониторинга микрогемодинамики был разработан лабораторный образец спекл-коррелометра полного поля, схема которого представлена на рис.1. Данная установка позволяла регистрировать изображения одного и того же участка образца как в когерентном свете (освещение лазером), так и при некогерентном освещении (светодиоды) без механической перенастройки. В связи с тем, что в конечном итоге объектом исследований является кровоток, для спекл-визуализации применялся одноименный гелий-неоновый лазер ГН-5П с длиной волны 633 нм, на которой происходит существенное рассеяние зондируемого излучения эритроцитами. Для микроскопических исследований использовался разработанный кольцевой осветитель, состоящий из 12 светодиодов с центральной длиной волны ~530 нм (AllLight, Гуангдонг, Китай). Выбор светодиодов обусловлен высоким поглощением крови в данной спектральной области, что дает увеличение контраста изображения сосудов. Лазерный пучок направлялся к исследуемой области через кварц-полимерный волоконный световод диаметром 400 мкм. Спекл-модулированные изображения поверхности анализируемого участка регистрировались монохромной КМОП-камерой (Basler а602f, число пикселей в матрице 656×491, размер пикселя 9.9×9.9 мкм, 8 бит/пиксель), оснащенной объективом ЛОМО с кратностью увеличения 10[×].

В методе спекл-коррелометрии полного поля контраст усредняемых по времени динамических спеклов оценивается в зависимости от времени усреднения спекл-модули-

рованных изображений. Для осуществления измерений в режиме реального времени необходимо проводить усреднение спекл-изображений за время от 5 до 30 мс (в экспериментах, описанных в данной статье, время экспозиции КМОП-камеры составляло 20 мс). Скорость снижения контраста регистрируемых спеклов при увеличении времени усреднения зависит от среднего времени смещения подвижных рассеивающих центров в зондируемом объеме на расстояние, равное длине волны зондирующего излучения в среде, и от среднего числа актов рассеяния при распространении излучения в зондируемом объеме. Анализ локальных оценок контраста спекл-модулированных изображений поверхности объекта при фиксированном времени экспозиции по зонам, охватывающим заданное число спеклов, позволяет визуализировать участки, существенно отличающиеся по значениям характеристик подвижности рассеивающих центров от усредненных по зондируемой области значений. В ходе обработки спекл-модулированных изображений анализируемого участка поверхности биоткани вычисляются значения контраста $V_k = \sigma_{I_k} / \bar{I}_k$, где k – номер кадра в последовательности спекл-модулированных изображений;

$$\bar{I}_k = \frac{1}{MN} \sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^N I_k(m, n)$$

– усредненное по анализируемому кадру значение яркости;

$$\sigma_{I_k} = \sqrt{\frac{1}{MN} \sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^N [I_k(m, n) - \bar{I}_k]^2}$$

– среднеквадратичная флуктуационная составляющая яркости пикселей; M и N – количество пикселей в строках и столбцах анализируемого фрагмента кадра соответственно; $I_k(m, n)$ – яркость пикселя в k -м кадре.

Усреднение по времени изображения движущихся объектов приводит к уменьшению контраста при любом типе движения спеклов. Для случайного распределения скоростей интенсивность каждого спекла флуктуирует. В каждом случае проблема количественных измерений связана с определением взаимосвязи между контрастом спеклов и скоростью движения рассеивателей (или распределением скоростей) [22–26].

Связь между скоростью и контрастом определяется следующим образом: чем выше скорость, тем быстрее происходят флуктуации и тем меньше контраст при заданном времени экспозиции. Взаимосвязь между контрастом спеклов и временной автокорреляционной функцией флуктуаций интенсивности описывается следующим выражением [13, 15]:

$$\sigma_s^2(T) = \frac{1}{T} \int_0^T \tilde{g}_2(\tau) d\tau, \quad (1)$$

где σ_s^2 – дисперсия пространственных флуктуаций интенсивности в спекл-структуре; T – время экспозиции; $\tilde{g}_2(\tau)$ – ковариационная функция временных флуктуаций интенсивности единичного спекла, являющаяся аналогом коэффициента автокорреляции:

$$\tilde{g}_2(\tau) = \frac{\bar{G}_2(\tau)}{\bar{G}_2(0)}; \quad \bar{G}_2(\tau) = \langle [I(t) - \langle I \rangle_t][I(t + \tau) - \langle I \rangle_t] \rangle_t. \quad (2)$$

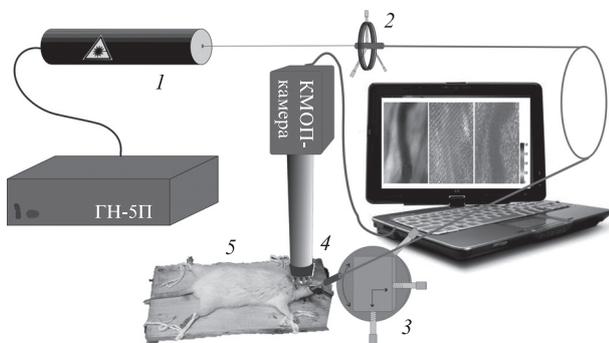


Рис.1. Схема экспериментальной установки:

1 – He-Ne-лазер ГН-5П с длиной волны 633 нм; 2 – оптическое волокно; 3 – детектор (КМОП-камера Basler A602f) (в режиме спекл-визуализации); 4 – тубус микроскопа с микрообъективом (Ломо, 10[×]) и 8-элементным светодиодным осветителем (центральная длина волны ~530 нм); 5 – объект исследования (в режиме микроскопии).

Данное соотношение определяет взаимосвязь спекл-коррелометрии полного поля и методов, которые используют флуктуации интенсивности лазерного света, рассеянного движущимся объектом или частицей. Спекл-коррелометрия полного поля использует спекл-модуляцию в области изображения, а основные временные методы – спекл-модуляцию в дальней зоне.

В принципе все эти методы позволяют определять время корреляции τ_c . В случае спекл-коррелометрии полного поля должны быть сделаны некоторые дополнительные допущения для нахождения связи измеряемого контраста спеклов (определяемого как $\sigma_s/\langle I \rangle$) с временем корреляции τ_c . В зависимости от типа исследуемого движения могут быть использованы различные модели. Для лоренцева распределения скоростей уравнение имеет вид [13, 15]

$$\frac{\sigma_s}{\langle I \rangle} = \left\{ \frac{\tau_c}{2T} \left[1 - \exp\left(-\frac{2T}{\tau_c}\right) \right] \right\}^{1/2}. \quad (3)$$

Это уравнение связывает контраст спеклов, вычисленный как отношение среднеквадратичного значения флуктуаций интенсивности к средней интенсивности, с временем корреляции τ_c для заданного T .

С этой точки зрения спекл-коррелометрия полного поля сталкивается с теми же проблемами, что и все частотно-временные методы: оценка времени корреляции связана с видом распределения рассеивателей по скоростям, зависит от эффектов многократного рассеяния, размеров частиц (в данном случае эритроцитов), от формы рассеивателей, не-newтоновского течения жидкости, негауссовой статистики, обусловленной малым числом рассеивателей, и т.д. Из-за неопределенностей, вызванных перечисленными факторами, в данных методах следует полагаться не на абсолютные измерения, а на соответствующую калибровку с помощью динамических фантомов биотканей.

Для измерения временной статистики флуктуирующей спекл-структуры необходимо отслеживать интенсивность одиночного спекла. В этом случае апертура приемника должна быть меньше среднего размера спекла, иначе возникает некоторое пространственное усреднение и нарушается статистика первого порядка. Спекл-коррелометрия полного поля подразумевает вычисление локального контраста спеклов по набору пикселей, число которых контролируется оператором. Чем больше обрабатываемая площадь, тем лучше статистика. Но также важно обработать достаточно большое количество спеклов, а не только пикселей; если спеклы значительно больше пикселей, то обрабатывается меньшее число спеклов. Данное обстоятельство означает, что подходящий размер спекла ограничен. Если спеклы слишком маленькие, каждый пиксель содержит более чем один спекл, что ведет к их усреднению и к уменьшению измеряемого контраста. Если спеклы большие, то для обеспечения хорошей статистики имеющееся число спеклов может оказаться недостаточным. Таким образом, размер спеклов необходимо тщательно контролировать, что можно осуществить выбором апертуры оптической системы, формирующей изображение, т.к. только она определяет размер спеклов. Однако, с другой стороны, это может ограничить возможность управления световым потоком на камере, поскольку выдержка затвора камеры задается диапазоном измеряемых скоростей. Если динамический диапазон камеры не очень

велик, это может стать значительным ограничением и потребовать использования нейтральных фильтров для обеспечения допустимых для приемника уровней светового потока.

Другой проблемой является невозможность экспериментально получить полный диапазон изменений контраста, возможный теоретически. Стационарный объект должен давать контраст, равный единице ($\sigma = \langle I \rangle$). Полностью смазанная спекл-структура, возникающая при быстром движении рассеивателей, должна иметь нулевой контраст. Модель Лоренца, например, предсказывает зависимость контраста $\sigma/\langle I \rangle$ от τ_c/T . Для заданного времени экспозиции T динамический диапазон измерений контраста от 0.1 до 0.9 должен соответствовать примерно 2.5 порядкам величины τ_c (а следовательно, и скорости).

На практике даже для стационарных случайных рассеивателей измеряемый контраст равен 0.6 [12]. Одной из причин этого является сама ПЗС-камера. Большинство ПЗС-камер разрабатывается со смещением постоянной составляющей относительно нуля, названным пьедесталом. Делается это для предотвращения обрезания отрицательных пиков, возникающих при обработке. Это дает эффект смещения гистограммы плотности вероятности по оси x с соответствующим влиянием на среднеквадратичное значение σ , следовательно, на контраст. При соответствующей обработке данных можно исключить влияние темнового тока. Тогда измеряемый контраст изображения стационарной диффузной поверхности возрастает от 0.41 до 0.95, что близко к теоретическому значению, равному единице для полностью развитых спеклов [13]. В тех же условиях контраст спекл-структуры, полученной от участка кожи человека, возрастает от 0.33 до 0.68. Малый по сравнению со случаем стационарных рассеивателей контраст обусловлен влиянием движущихся рассеивателей в объеме ткани (эритроциты). Другие проблемы со статистикой связаны с гауссовым профилем лазерного пучка и с нелинейностью ПЗС-камеры [13].

Для проведения измерений и расчета контраста в среде LabVIEW 8.5 (National Instruments, США) была разработана программа, позволяющая в режиме реального времени с частотой до 100 кадров в секунду регистрировать распределение интенсивности спекл-поля и рассчитывать по формуле (1) в указанной оператором области средний контраст или его пространственное распределение с параллельной визуализацией. Блок-схема расчета контраста и распределения локальных оценок контраста представлена на рис.2. На рис.3 приведены изображения типичного сосуда, полученные при использовании метода цифровой микроскопии, метода пространственного распределения локальных оценок контраста спекл-картины и после нормализации этого распределения. Одним из самых важных параметров при исследованиях контраста является время регистрации спекл-картины – экспозиция. Несмотря на то что существует возможность (в известных пределах) программно управлять экспозицией камеры, в реальном эксперименте имеются ограничения, не позволяющие выбирать ее любое доступное значение. Так, в связи с разными у различных образцов коэффициентами поглощения и рассеяния, а также с различиями их внутренней динамики (или в случае значительных временных или пространственных вариаций этих параметров для одного образца), при неизменной интенсивности падающего излучения наблюдаются существенные различия в статистике регистрируемого распределения флуктуаций

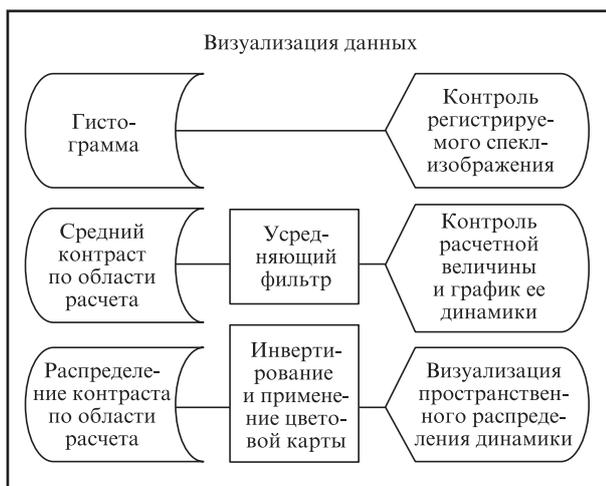
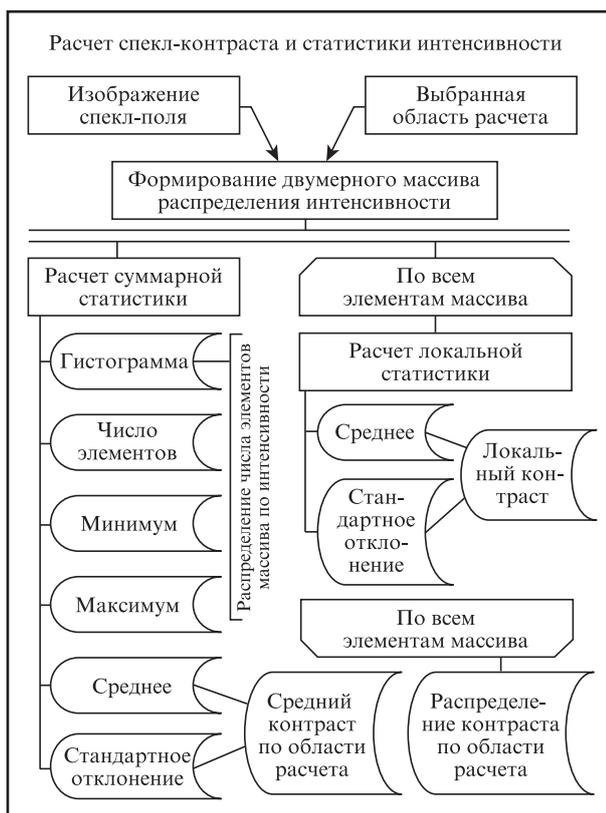


Рис.2. Блок-схема расчета контраста и распределения интенсивности спекл-картин.

интенсивности, а следовательно, и в рассчитываемом на его основе контрасте.

Автоматизированный алгоритм настройки параметров цифровой камеры, который был разработан и встроен в используемую программу анализа контраста, позволил частично компенсировать указанные выше различия путем оптимального подбора усиления и яркости при фиксированной экспозиции. Тем не менее, в случае недостаточного времени накопления или слишком большого количества света, падающего на светочувствительные элементы камеры за время экспозиции, статистика флуктуаций интенсивности регистрируемого изображения искажается. Это происходит из-за недостаточной чувствительности или «перегрузки» светочувствительных элементов детектора.

3. Обсуждение полученных результатов

Разработанное программное обеспечение позволило рассчитать пространственное распределение контраста по экспериментальным данным при исследованиях церебрального кровотока животных (табл.1), а также провести успешные исследования динамики микроциркуляции крови в ногтевом ложе человека при окклюзии (в данной публикации не отражены). Результат работы программы заключается в расчете пространственного распределения контраста, полученного по пяти последовательным изображениям динамической спекл-картины.

В табл.1 представлены экспериментальные значения контраста, полученные в результате спекл-корреляционного мониторинга микроциркуляции крови в поверхност-

Табл.1. Динамика контраста при изменении функционального состояния подопытных животных.

Группа животных	Усредненное значение контраста			
	До введения суживающего агента	После введения суживающего агента	До введения расширяющего агента	После введения расширяющего агента
1	0.30±0.02	0.14±0.01	0.31±0.01	0.36±0.02
	0.33±0.01	0.27±0.01	0.31±0.01	0.34±0.01
2	0.24±0.01	0.15±0.01	0.27±0.01	0.32±0.03
	0.33±0.01	0.25±0.01	0.33±0.01	0.37±0.02
3	0.26±0.01	0.21±0.01	0.27±0.01	0.40±0.02
	0.28±0.01	0.23±0.01	0.24±0.01	0.31±0.02
	0.24±0.01	0.22±0.01		

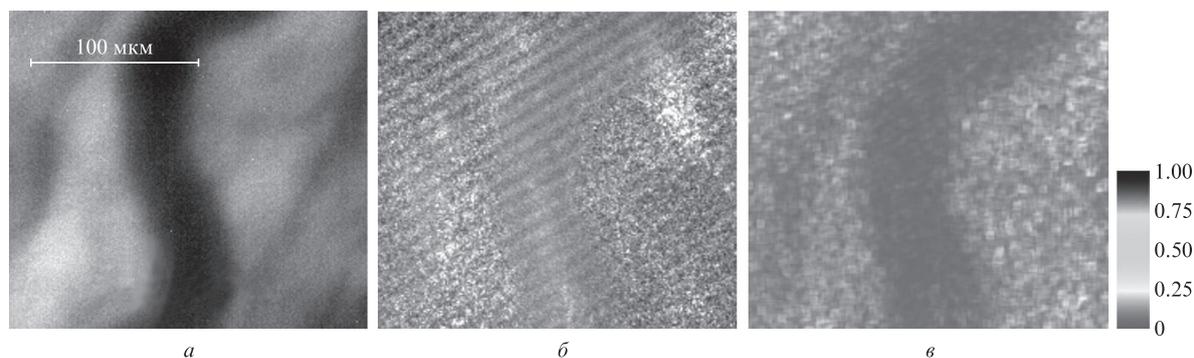


Рис.3. Микроскопическое изображение типичного сосуда (а), пространственное распределение локальных оценок контраста (б) и пространственное распределение локальных оценок контраста после нормировки в зоне сосуда (в).

ных слоях коры головного мозга подопытных животных в нормальном состоянии и в случаях искусственно вызванных патологий. Приведенные в таблице данные, соответствующие установившимся режимам микрогемодинамики в норме и при патологиях, являются результатами усреднения по наборам измеренных в экспериментах значений контраста для различных подопытных животных. В соответствие с методикой оценки доверительного интервала Δ_{ξ} при неизвестной функции распределения измеряемой случайной величины ξ [28], значения Δ_V определялись для уровня значимости 0.9 как $\Delta_V \approx 1.6\sigma$. Ожидаемым результатом является возрастание контраста усредненных по времени спеклов в результате подавления микрогемодинамики при внутривенном введении сосудорасширяющего агента. Напротив, внутривенное введение сосудосуживающего агента должно приводить к возрастанию интенсивности гемодинамики и существенному снижению контраста по сравнению с нормой.

Результаты исследований показали, что при установленном физиологическом режиме для здоровых животных (3-я группа) контраст, зависящий от состояния микроциркуляции крови, варьируется от 0.24 до 0.28. Через сутки после стрессового воздействия (1-я группа животных) скорость капиллярного кровотока снизилась, о чем можно было судить по более высокому по сравнению с нормой контрасту, составившему 0.3–0.33. Снижение интенсивности капиллярного кровотока на следующие сутки после вызванного у исследуемых животных инсульта является ожидаемым результатом. Мониторинг состояния микроциркуляции крови непосредственно после стрессового воздействия (2-я группа животных) выявил изменения в значениях контраста по сравнению с нормой только у двух животных (контраст вырос до 0.33). Изменение контраста и соответственно состояния микроциркуляции при введении сосудорасширяющих и сосудосуживающих агентов также соответствовало ожидаемому физиологическому отклику (расширение и сужение сосудов и соответствующее изменения скорости кровотока) на осуществляемые воздействия. Таким образом, метод спекл-визуализации позволяет в режиме реального времени отслеживать изменения состояния микроциркуляции крови.

Для предложенного метода спекл-корреляционного мониторинга полного поля с использованием многомодового волоконного световода при передаче лазерного излучения к зондируемой области контраст не превышает 0.6 даже в случае зондирования многократно рассеивающих статических сред (например, модельных рассеивателей на основе слоев полимеров). Одной из причин, обуславливающих столь малые значения контраста детектируемых спекл-модулированных изображений, является деполаризация лазерного излучения при его распространении в многомодовых волоконных световодах. Формируемое в результате в зоне детектирования спекл-поле, деполаризованное в макроскопическом масштабе, может быть представлено в виде суперпозиции двух статистически независимых развитых спекл-полей со взаимно ортогональными направлениями поляризации [29, 30]; предельный контраст результирующего стационарного спекл-поля в данном случае равен ~ 0.7 . Другими факторами, приводящими к снижению контраста, являются неконтролируемые микровибрации элементов спекл-коррелометрической системы (в первую очередь волоконного световода), а также инструментальные погрешности при регистрации

КМОП-матрицей динамических спекл-модулированных изображений.

Значительные вариации контраста, обусловленные изменениями микроциркуляции, наблюдаются в наших экспериментах при времени экспозиции 20 мс; при этом характерные времена смещения эритроцитов λ/\bar{v} на расстояние порядка длины волны зондирующего излучения при их движении в микроциркуляторном русле составляют 10^{-3} – 10^{-2} с. С другой стороны, предварительные исследования возможности калибровки спекл-коррелометрической системы с использованием потока рассеивающей жидкости (суспензия полидисперсных частиц в воде) с фиксированной скоростью в полистироловой трубке диаметром 3 мм показали, что при экспозиции 20 мс значения $V(T)$ при детектировании излучения, рассеянного потоком, изменяются от 0.4 до 0.04 при изменении скорости потока от 30 до 400 мкм/с [31].

К одному из возможных будущих применений метода спекл-коррелометрии полного поля в клинической практике можно отнести малоинвазивный мониторинг церебральной микроциркуляции крови в мозге малых животных без вскрытия черепа при иммерсионном оптическом просветлении кожных и костных тканей головы с помощью гиперосмотических агентов [32–34] и применения других алгоритмов обработки спекл-изображений [35–37]. Например, в [36] приведены результаты мониторинга церебрального кровотока методом спекл-коррелометрии полного поля с временным усреднением без повреждения черепной коробки крысы. Среди работ, посвященных решению этой проблемы, стоит отметить работу, речь в которой идет об эффективности совместного применения методов оптического просветления и спекл-коррелометрии полного поля для мониторинга сильно рассеивающих сред с выраженной динамикой рассеивателей [38]. В недавно опубликованной работе [39] говорится об успешном применении метода спекл-коррелометрии полного поля для мониторинга церебрального кровотока с применением метода оптического просветления.

Таким образом, экспериментальное исследование динамики скорости кровотока при инсульте у лабораторных крыс продемонстрировало высокую эффективность разработанного устройства и алгоритма получения и обработки данных методом спекл-визуализации полного поля с целью мониторинга состояния микроциркуляции крови в коре головного мозга, обусловленного патологическими изменениями или воздействием агентов.

Авторы выражают особую благодарность доценту кафедры физиологии растений и животных биологического факультета СГУ В.А.Бердниковой за помощь в подготовке исследуемых лабораторных животных.

Динамический фантом биоткани был предоставлен Научно-образовательным институтом оптики и биофотоники СГУ. Авторы выражают особую благодарность группе разработчиков: В.В.Лычагову, Э.А.Гениной, А.Н.Башкатову и В.И.Кочубею.

Работа выполнена в рамках госконтракта № 02.740.11.0879 и поддержана грантом Президента РФ поддержки ведущих научных школ № НШ-1177.2012.2, грантом № 0121158566 Министерства образования и науки на проведение научных исследований, грантом № 224014 7-й рамочной программы Европейской Комиссии – Консорциум по Биофотонике (Photonics4Life) и программы FiDiPro TEKES (40111/11), Финляндия.

1. Bonner R., Nossal R. *Appl. Opt.*, **20**, 2097 (1981).
2. Serov A., Steinacher B., Lasser T. *Opt. Express*, **13**, 3681 (2005).
3. Dunn A.K., Bolay H., Moskowitz M.A., Boas D.A. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **21**, 195 (2001).
4. Peiponen K.-E., Myllylä R., Priezhev A.V. *Optical Measurement Techniques, Innovations for Industry and the Life Science* (Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2009).
5. *Coherent-Domain Optical Methods: Biomedical Diagnostics, Environmental and Material Science*. Ed. by V.V.Tuchin (Boston: Kluwer Acad. Publ., 2004, v. 1 & 2).
6. Kalchenko V., Harmelin A., Fine I., Zharov V., Galanzha E., Tuchin V. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **6436**, 64360D-1-15 (2007).
7. Bryan R.N., Levy L.M., Whitlow W.D., Killian J.M., Preziosi T.J., Rosario J.A. *Am. J. Neuroradiol.*, **12**, 611 (1991).
8. Razumovsky A.Y., Gillard J.H., Bryan R.N., Hanley D.F. *Acta Neurol. Scand.*, **99**, 65 (1999).
9. Zimnyakov D.A. *Coherent-Domain Optical Methods: Biomedical Diagnostics, Environmental and Material Science*. Ed. by V.V.Tuchin (Boston: Kluwer Acad. Publ., 2004, v. 1, p. 3–41).
10. Meglinskii I.V., Tuchin V.V. *Coherent-Domain Optical Methods: Biomedical Diagnostics, Environmental and Material Science*. Ed. by V.V.Tuchin (Boston: Kluwer Acad. Publ., 2004, v. 1, p. 139–164).
11. Виленский М.А., Агафонов Д.Н., Зимняков Д.А., Тучин В.В., Здражевский Р.А. *Квантовая электроника*, **41** (4), 324 (2011).
12. Briers J.D., Webster S. *J. Biomed. Opt.*, **1**, 174 (1996).
13. Briers J.D. *Physiol. Meas.*, **22**, 35 (2001).
14. *Advanced Optical Flow Cytometry: Methods and Disease Diagnoses*. Ed. by V.V.Tuchin (Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011).
15. Зимняков Д.А., Брайерс Дж.Д., Тучин В.В. *Оптическая биомедицинская диагностика*. Под ред. В.В.Тучина (М.: Физматлит, 2007, т. 2, с. 284–321).
16. Галанжа Е.И., Брилли Г.Е., Айзу Й., Ульянов С.С., Тучин В.В. *Оптическая биомедицинская диагностика*. Под ред. В.В.Тучина (М.: Физматлит, 2007, т. 2, с. 200–240).
17. Покровский А.В., Кияшко В.А. *Русский мед. журн.*, №12, 691 (2011).
18. Федин А.И., Ермошкина Н.Ю., Солдатов М.А. *Неврологический журнал*, **12** (2), 18 (2007).
19. Романова Т.П. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*, **3**, 80 (1989).
20. Zimnyakov D.A., Agafonov D.N., Sviridov A.P., Omel'chenko A.I., Kuznetsova L.V., Bagratashvili V.N. *Appl. Opt.*, **41** (28), 5984 (2002).
21. Зимняков Д.А., Свиридов А.П., Кузнецова Л.В., Баранов С.А., Игнатьева Н.Ю., Лунин В.В. *Журн. физ. хим.*, **81** (4), 725 (2007).
22. Boas D.A., Dunn A.K. *J. Biomed. Opt.*, **15** (1), 011109 (2010).
23. Yuan S., Devor A., Boas D.A., Dunn A.K. *Appl. Opt.*, **44**, 823 (2005).
24. Wang Z., Luo Q.M., Cheng H.Y., Luo W.H., Gong H., Lu Q. *Prog. Nat. Sci.*, **13**, 522 (2003).
25. Zakharov P., Bhat S., Schurtenberger P., Scheffold F. *Appl. Opt.*, **45**, 1756 (2006).
26. Jiang C., Zhang H., Wang J., Wang Y., He H., Liu R., Zhou F., Deng J., Li P., Luo Q. *J. Biomed. Opt.*, **16** (11), 116008 (2011).
27. Ульянова О.В., Ульянов С.С., Ли П., Луо Ч. *Квантовая электроника*, **41** (4), 340 (2011).
28. Новицкий П.В., Зограф И.А. *Оценка погрешностей результатов измерений* (Л.: Энергоатомиздат, 1985).
29. Serov A., Steenbergen W., de Mul F. *J. Opt. Soc. Am. A*, **18**, 622 (2001).
30. Гудмен Дж. *Статистическая оптика* (М.: Мир, 1988).
31. Zimnyakov D.A., Tuchin V.V., Yodh A.G. *J. Biomed. Opt.*, **4** (1), 157 (1999).
32. Агафонов Д.Н., Тимошина П.А., Виленский М.А., Федосов И.В., Тучин В.В. *Изв. СВУ. Сер. физика*, **11** (2), 14 (2011).
33. Bashkatov A.N., Genina E.A., Sinichkin Yu.P., Kochubey V.I., Lakodina N.A., Tuchin V.V. *Biophys. J.*, **85** (5), 3310 (2003).
34. Genina E.A., Bashkatov A.N., Tuchin V.V. Doi: 10.1155/2008/267867.
35. Bashkatov A.N., Genina E.A., Tuchin V.V. *Handbook of Biomedical Optics*. Ed. by D.A.Boas, C.Pitris, N.Ramanujam (London: Taylor & Francis Group, CRC Press Inc., 2011, chap. 5).
36. Ayata C., Shin H.K., Salomone S., Ozdemir-Gursoy Y., Boas D.A., Dunn A.K., Moskowitz M.A. *J. Cereb. Blood Flow & Metab.*, **24**, 1172 (2004).
37. Li P., Ni S., Zhang L., Zeng S., Luo Q. *Opt. Lett.*, **31** (12), 1824 (2006).
38. Wang J., Zhu D., Chen M., Liu X. *Innov. J. Opt. Health Sci.*, **3** (3), 159 (2010).
39. Wang J., Zhang Y., Xu T., Luo Q., Zhu D. *Laser Phys. Lett.*, **9** (6), 469 (2012).