

Мультимодальная визуализация сосудистого русла и микроциркуляции кровотока методами оптической диагностики

Ю.Л.Кузнецов, В.В.Кальченко, И.В.Меглинский

Представлен мультимодальный подход к оптической диагностике для одновременной неинвазивной in vivo визуализации кровеносных и лимфатических микрососудов, в котором сочетается использование флуоресцентной интравитальной микроскопии и метода динамического рассеяния света. Такой подход позволяет отказаться от применения флуоресцентных маркеров для визуализации кровеносных сосудов и тем самым существенно (в десятки раз) уменьшить токсичность контрастного флуоресцентного вещества и минимизировать побочные действия, вызываемые его применением. Показано, что данный мультимодальный подход, наряду с возможностью получения изображений лимфатических и кровеносных микрососудов с высоким пространственным разрешением, позволяет наблюдать изменение проницаемости последних в реальном времени. Данная методика представляется особенно перспективной в приложении к изучению физиологии сосудов и, в частности, при изучении периферического отдела сердечно-сосудистой системы в естественных условиях in vivo.

Ключевые слова: флуоресцентная интравитальная микроскопия, динамическое рассеяние света, лимфатические и кровеносные микрососуды, микроциркуляция, сосудистое русло, мультимодальный подход.

1. Введение

В последние годы в связи интенсивным развитием оптических технологий наблюдается устойчивая тенденция к более широкому использованию лазерных и оптоэлектронных приборов в биомедицинской диагностике для визуализации внутренней структуры биологических объектов [1–3]. Примерами успешно решаемых диагностических задач являются воспроизведение и обработка изображения внутренней структуры исследуемых объектов (оптическая томография), неинвазивное определение различных физиологических параметров, включая изменение концентрации кислорода, глюкозы, различных хромофоров, и др. [3]. Особое место в задачах оптической диагностики занимает разработка неинвазивных методов визуализации и количественной оценки микроциркуляции кровотока и/или лимфотока in vivo. Микроциркуляция – это собирательное понятие, которое объединяет ряд явлений, происходящих в мелких периферических сосудах кровеносной и лимфатической систем, а также в межклеточном пространстве биоткани [4–11]. Совокупность сосудов, обеспечивающих микроциркуляцию, называется микроциркуляторным руслом и включает в себя капилляры, венулы, артериолы, артериоловенулярные анастомозы и лимфатические капилляры [4–11]. Основная функция микроциркуляции состоит в транспорте

клеток крови, питательных веществ и продуктов жизнедеятельности клеток к тканям и от тканей. Кроме того, микроциркуляция участвует в процессах терморегуляции, формирования цвета и плотности тканей.

Нарушения микроциркуляции кровотока и лимфотока могут быть признаками патологических процессов, тесно связанных с различными заболеваниями, включая диабет [12], атеросклероз [13], варикозное расширение вен [14], анемию [15], ишемическую болезнь [16] и др.

К числу наиболее известных на сегодняшний день оптических и неоптических методов, используемых для визуализации и мониторинга функций микроциркуляторного русла, относятся магнитно-резонансная томография [16], позитронно-эмиссионная томография [17], ультразвук [18], компьютерная капилляроскопия [19], конфокальная микроскопия [20], оптическая когерентная томография [21], оптическая доплеровская томография [22], лазерная доплеровская спектроскопия [23], лазерная спекл-контрастная визуализация [24], ортогональная поляризация спектральных изображений [25], динамическое рассеяние света [26], диффузионно-волновая спектроскопия [27], лазерная диффузионная доплеровская скоростеметрия [28]. Следует отметить, что существенным недостатком большинства вышеперечисленных методов является невозможность одновременного мониторинга кровеносных и лимфатических микрососудов in vivo.

В настоящей работе сделана попытка комбинированного использования методов флуоресцентной интравитальной микроскопии (ФИМ) и динамического рассеяния света (ДРС) для одновременной визуализации кровеносных и лимфатических сосудов, микроциркуляции кровотока и лимфотока в них и уменьшения общей токсичности ФИМ.

Y.L.Kuznetsov, V.V.Kal'chenko. Department of Veterinary Resources, Weizmann Institute of Science, Rehovot, 76100, Israel; e-mail: a.kalchenko@weizmann.ac.il

I.V.Meglinskii. Department of Physics, University of Otago, P.O. Box 56, Dunedin 9054, New Zealand; e-mail: igor@physics.otago.ac.nz

Поступила в редакцию 25 февраля 2011 г.

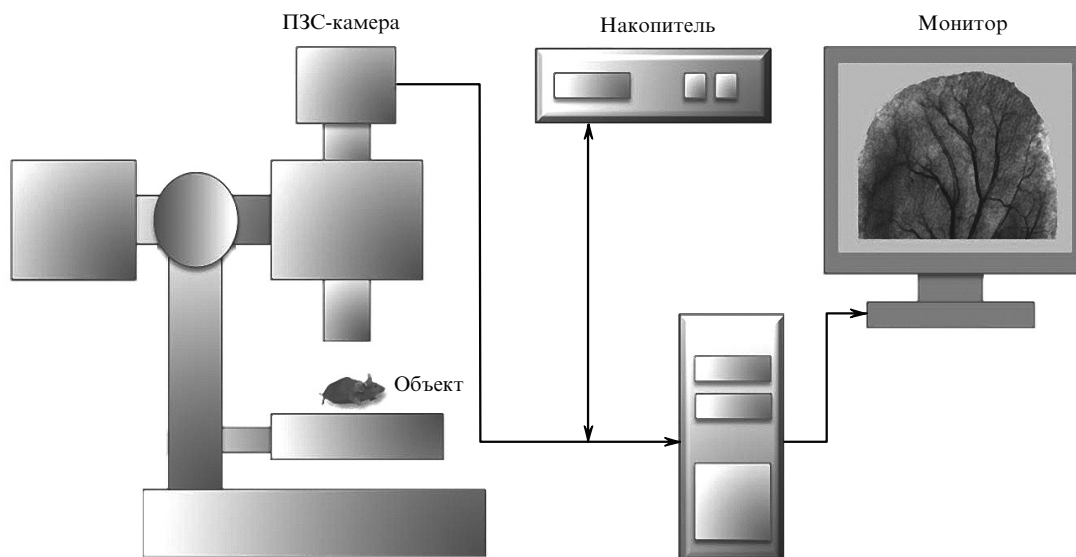


Рис.1. Схема эксперимента с использованием метода ФИМ.

2. Флуоресцентная интравитальная микроскопия

Начало применению интравитальной микроскопии для изучения микроциркуляции было положено в 1846 г. Волером (Waller), изучавшим прохождение эритроцитов через микрососуды языка лягушки [29]. При дальнейшем развитии метода были предложены различные усовершенствования, например использование вживленных в складки кожи уха подопытного животного специальных прозрачных пластинок, позволяющих проводить длительные наблюдения за микроциркуляцией в процессе заживления ран [30], при наличии вживленной эпителиальной опухоли [31], в процессе роста опухоли [32, 33] и т. д. Кроме того, активно использовалась возможность вызывать свечение введенного в организм (биоткань) флуоресцентного вещества* в ответ на внешнее световое воздействие. С этого времени метод становится известным как метод флуоресцентной интравитальной микроскопии [34, 35]. Визуализация флуоресценции (переизлученного света) позволяет выявить пространственную локализацию флуорофоров в тканях исследуемого биологического объекта, что обусловлено способностью флуорофоров связываться с определенными молекулами в живом организме. Данная методика дает возможность визуализировать отдельно взятые микрососуды с разрешением порядка 3–5 мкм. ФИМ широко применяется при изучении резорбтивной и выделительной функций различных органов и систем, позволяя получать ценнейшую информацию о физико-химических условиях и процессах, протекающих в живых клетках [36]. С развитием атравматических микрохирургических технологий ФИМ находит все более широкое применение в биомедицинских исследованиях, включая визуализацию микроциркуляции не только тканей кожи, но и практически всех органов – печени [37], почек [38], поджелудочной железы [39], легких [40], сердца [41], мозга [42], лимфатических узлов [43] и др.

*Часто именуется флуоресцентным маркером, или просто маркером, и представляет собой флуорофор – флуоресцентное вещество (краску), способное поглощать оптическое излучение заданной длины волны и переизлучать свет с большей длиной волны.

Следует отметить, что применительно к задачам биологии и медицины классическая оптическая микроскопия обычно имеет дело с отдельной клеткой, культурой клеток или гистологическими срезами *in vitro*. При этом исследуемые биологические образцы подвергаются специальной химической или термической обработке, включая так называемое гистологическое окрашивание, в результате чего их жизнедеятельность полностью прекращается. Но даже в случае работы с живыми клеточными объектами речь, как правило, идет об отдельных клетках, а не о сложном многоклеточном организме в целом.

В свою очередь ФИМ и различные модификации этого метода применяются для наблюдения за процессами *in vivo*, т. е. на живых клеточных объектах или на живом многоклеточном организме без прекращения его жизнедеятельности и, чаще всего, даже без нарушения его целостности (так называемые неинвазивные исследования). При этом исследуемый биологический объект не подвергается предварительной гистологической и/или гистохимической обработке.

Таким образом, существенным преимуществом ФИМ является возможность получения изображения внутренней структуры биоткани в реальном времени с высоким пространственным и временным разрешениями, что особенно важно при исследованиях анатомии и физиологии кровеносных и лимфатических сосудов в контексте системных взаимодействий последних.

На рис.1 представлена схема экспериментальной установки ФИМ, в которой флуоресценция используется как способ маркировки (контрастирования) микрообъектов. Эта схема включает в себя микроскоп, адаптированный для работы с живыми объектами, устройство для регистрации изображений – ПЗС-камеру, сигнал от которой поступает на видеозаписывающее устройство (накопитель), и персональный компьютер, используемый для обработки результатов и вывода получаемого изображения на экран монитора. В арсенал ФИМ входят различные методы визуализации, начиная от стандартной флуоресцентной микроскопии, в которой для возбуждения различных флуоресцентных молекул используется внешний источник света (обычно ртутная, ксеноновая, реже – галогеновая лампа), до конфокальной или мультифотонной микроскопии, позволяющей получать высокое каче-

ство изображения в глубине ткани [44]. Как уже отмечалось выше, на практике оптическая визуализация кровеносных и лимфатических капилляров обычно осуществляется путем инъекции флуоресцентного вещества с высоким молекулярным весом на основе альбуминов и декстранов. Время циркуляции данных веществ в сосудистом русле является достаточно продолжительным (до нескольких часов), что позволяет с высокой точностью определять области экстравазации красителя и зоны обструкции [45].

3. Динамическое рассеяние света

Развитие метода ДРС применительно к задачам диагностики оптически неоднородных динамических рассеивающих сред началось в конце 1960-х годов [46, 47]. Этот метод основан на статистическом анализе интенсивности лазерного излучения, рассеянного движущимися частицами [48]. Вследствие относительно низкой скорости движения рассеивающих частиц доплеровский сдвиг оказывается достаточно малым в сравнении с собственной частотой падающего света. Метод ДРС называют также методом квазиупругого светорассеяния [49], методом спектроскопии оптического смещения и корреляции фотонов [47], методом светобийений [50], лазерной корреляционной спектроскопией [51], лазерным гетеродинамированием [52]. Все вышеперечисленные названия хотя и отражают определенные методические и технические нюансы, но на самом деле соответствуют одному и тому же типу эксперимента, а именно ДРС, когда тем или иным способом анализируются флуктуации интенсивности рассеянного средой излучения.

Основная идея метода ДРС заключается в том, что падающее лазерное излучение (с оптической частотой $\sim 5 \times 10^{14}$ Гц) рассеивается в среде. В результате на поверхности фотоприемника происходит сложная интерференция волн, обусловленная рассеянием света различными макро- и микро неоднородностями среды. При этом наблюдается неподвижная интерференционная картина (так называемая спекл-картина) [53]. Когда рассеиватели движутся, интерференционная картина меняется – интенсивность излучения в каждой точке фотоприемника флуктуирует [51]. Другими словами, в процессе рассеяния появляется новая, рассеянная волна, основная частота которой та же, что и у падающей световой волны, но амплитуда и фаза модулированы синхронно с флуктуациями диэлектрической постоянной среды. Чтобы извлечь информацию, содержащуюся в модуляции, нужно демодулировать рассеянный свет и получить спектральную плотность мощности модуляции интенсивности.

Для анализа временной зависимости флуктуаций интенсивности рассеянного излучения, обусловленных движением рассеивающих частиц, необходимо проанализировать спектр рассеянного света. Таким образом, в методах ДРС измеряемой величиной является спектр мощности флуктуаций фототока $S(\omega)$ или временная автокорреляционная функция интенсивности рассеянного излучения $G_2(\tau)$. Согласно теореме Винера – Хинчина обе эти величины связаны между собой преобразованием Фурье [47, 50] и несут одинаковую информацию о среде, хотя для их измерений и используются разные подходы [1, 51 – 56].

На сегодняшний день существует большое количество работ, в которых описаны различные аспекты при-

менения метода ДРС для неинвазивного измерения микроциркуляции кровотока *in vivo* [1, 27, 57 – 60]. Другим примером использования флуктуаций интенсивности рассеянного средой излучения для визуализации кровотока в кровеносных сосудах является лазерная контрастная визуализация спеклов [26]. В основе данного метода лежит последовательная регистрация с помощью видеокамеры динамики спеклов, отражающей кровотоки. Измеряемой величиной является контраст спеклов, характеризующий глубину пространственной модуляции рассеянного спекл-поля [26] и определяемый как отношение среднеквадратичного отклонения флуктуаций интенсивности δ , измеряемого при смене реализаций рассеивающего объекта, к усредненной интенсивности $\langle I \rangle$. Получаемые данным методом изображения конвертируются с помощью специально разработанной компьютерной программы Samwate (Германия) в распределение спеклов, усредненное по времени (обычно в промежутке 5 – 50 мкс).

4. Материалы и методы

Конструкция экспериментальной мультимодальной установки, сочетающей использование методов ФИМ и ДРС и применяемой для визуализации микрососудистого русла кровеносной и лимфатической систем, представлена на рис.2.

Основой этой установки являлся флуоресцентный стереомикроскоп SZX 12 RFL2 (Olympus, Япония), оснащенный высокочувствительной монохромной ПЗС-камерой (PIXELFLY QE, PCO, Германия) с динамическим

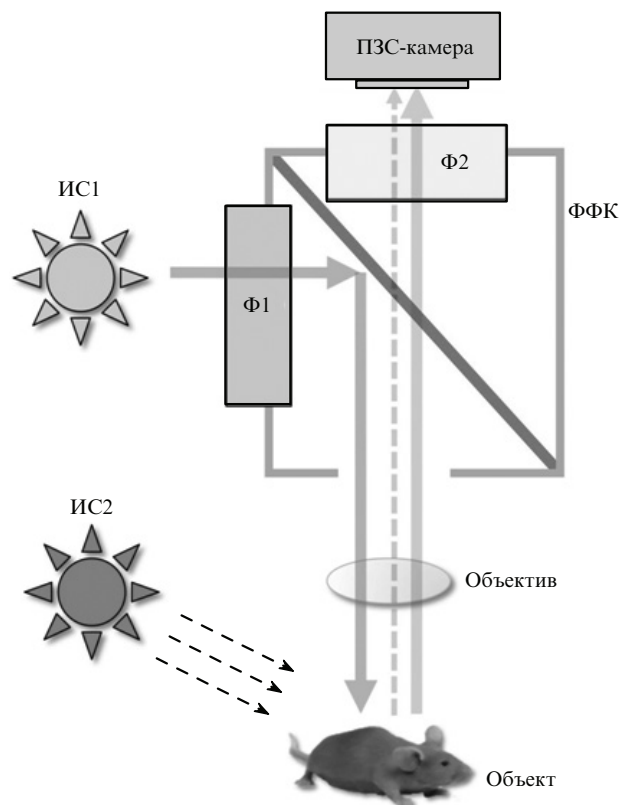


Рис.2. Схема мультимодальной экспериментальной установки: ИС1 – ртутная газоразрядная лампа и ФФК – флуоресцентный фильтрующий куб с фильтрами Ф1 и Ф2 (являются частью стандартного флуоресцентного осветителя – стереомикроскопа); ИС2 – источник лазерного излучения.

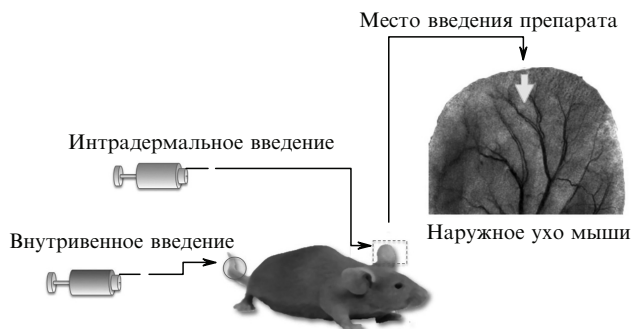


Рис.3. Способы введения контрастного вещества.

диапазоном 12 бит. Система освещения объектов включала в себя два источника света: ртутную газоразрядную лампу высокого давления мощностью 50 Вт (часть стандартного флуоресцентного осветителя используемого микроскопа) и источник лазерного излучения мощностью 10 мВт на длине волны 670 нм (ELFI-C, Израиль).

В качестве модели для изучения микрососудистого русла лимфатической и кровеносной систем использовалось ухо «голой» мыши [26]. Поверхность уха освещалась в двух последовательных режимах: ФИМ, с использованием ФФК (флуоресценция возбуждалась ИС1 в диапазоне длин волн 460–490 нм, регистрация осуществлялась эмиссионным фильтром Ф2 в пределах 510–550 нм) и ДРС. Засветка образца в методе ДРС производилась при помощи ИС2. Получение изображения в обоих режимах осуществлялось через единую оптическую систему микроскопа. ФФК использовался только в режиме ФИМ, в случае режима ДРС он автоматически отключался, что позволяло отраженному лазерному излучению беспрепятственно попадать на матрицу ПЗС-камеры, управляемой при помощи специализированного программного обеспечения Camware, PCO (Германия). Время экспозиции камеры в обоих режимах составляло 50 мс. Для анализа и обработки полученных изображений использовалось программное обеспечение ImageJ, NIH (США).

Для реализации режима ФИМ маркером служил Dextran-FITC 500.000 Sigma (Германия). Способы введения флуорофора с целью последовательной визуализации лимфатической и кровеносной систем схематично представлены на рис.3. Для визуализации кровеносных сосудов флуорофор вводится в хвостовую вену мыши путем обычной гидродинамической инъекции Dextran-FITC (см. рис.3) в количестве 30 мг/кг живого веса животного. Через одну-две секунды после введения маркер поступает в артерии и артериолы наружного уха мыши. Окрашивание лимфатических сосудов осуществляется путем введения флуорофора непосредственно в область наружного уха мыши при помощи интрадермальной микроинъекции, в результате чего краситель через капиллярную сеть незамедлительно поступает в лимфосистему.

Все экспериментальные процедуры проводились в полном соответствии с международными стандартами работы с лабораторными животными и в соответствии с этическими стандартами института Вайцмана.

5. Результаты и их обсуждение

Изображение микрососудистого русла кровеносной системы, полученное методом ФИМ, представлено на

рис.4. На данной фотографии кровеносные сосуды представляют собой яркие (белые) разветвленные полосы различного размера и формы.

Следует отметить, что большинство флуоресцентных маркеров, используемых для визуализации кровеносных сосудов методом ФИМ, являются чрезвычайно токсичными веществами, что накладывает существенные ограничения на практическое применение данного метода. В настоящее время достоверной систематической оценки степени токсичности воздействия флуоресцентных красителей на организм животного во время и/или сразу после облучения биоткани не существует. В научной литературе обычно рассматриваются токсические эффекты, связанные с собственно флуоресцентным красителем или с его конъюгатом, и токсические эффекты, обусловленные образованием в клетках организма продуктов фотолиза [61, 62]. Критерием фототоксичности являются нарушения лейкоцитарно-эндотелиального взаимодействия, происходящие с флуоресцентно-мечеными лейкоцитами [63]. Неблагоприятные реакции на введение флуоресцеина отмечены в 5% случаев, что выражается в нарушениях работы сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта, в образовании тромбозов в месте введения и в аллергических реакциях. Известны случаи остановки сердца и анафилаксии с летальным исходом при внутривенном введении флуоресцентных маркеров [64]. Таким образом, безопасное использование ФИМ требует значительного уменьшения концентрации флуоресцентных маркеров, применяемых в экспериментах *in vivo*, и проведения более детальных клинических и лабораторных испытаний.

На рис.5,а представлена необработанная спекл-картина, полученная в процессе освещения наружного уха мыши диодным лазером, на рис.5,б показан тот же участок наружного уха после обработки изображения. Меньшие значения контраста соответствуют большей скорости движения эритроцитов в кровеносных сосудах. Из сопоставления изображений, полученных независимо друг от друга методами ФИМ и ДРС (см. рис.4 и рис.5,б), видно, что оба метода позволяют получать идентичные изображения одного и того же сосудистого русла (рис.6).

На рис.6,а представлено монохромное изображение участка наружного уха мыши, полученное методом ФИМ *in vivo*. На рис.6,б представлено изображение того же

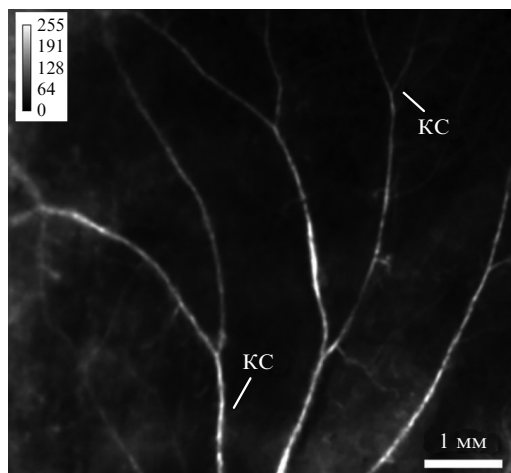


Рис.4. Монохромное изображение кровеносных сосудов (КС) наружного уха мыши, полученное методом ФИМ.

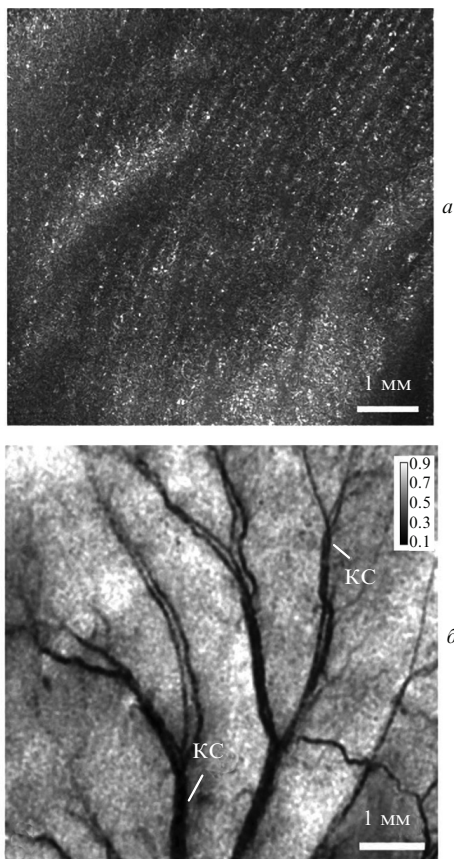


Рис.5. Изображение участка наружного уха лабораторной мыши, полученное методом ДРС: необработанная спекл-картина (а) и рисунок кровеносных сосудов после обработки изображения (б).

участка уха мыши, полученное методом ДРС. Штриховыми линиями обозначены границы сравниваемых областей. Изображение на рис.6,в является результатом наложения участков изображений, полученных методами ФИМ и ДРС. Сопоставление изображений наглядно демонстрирует, что метод ДРС позволяет видеть те же кровеносные сосуды, что и метод ФИМ.

Результаты одновременного использования методов ФИМ и ДРС для визуализации кровеносных и лимфатических сосудов представлены на рис.7. Инvertирированное монохромное изображение участка наружного уха мыши (рис.7,а) получено методом ДРС. Кровеносные сосуды

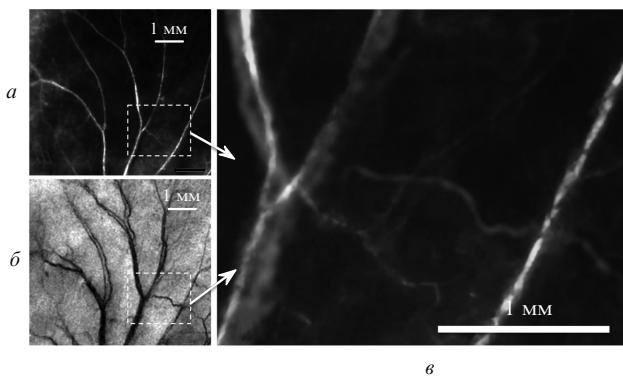


Рис.6. Изображения кровеносных сосудов одного и того же участка наружного уха мыши, полученные методами ФИМ (а) и методом ДРС (б); изображение в получено наложением друг на друга изображений а и б.

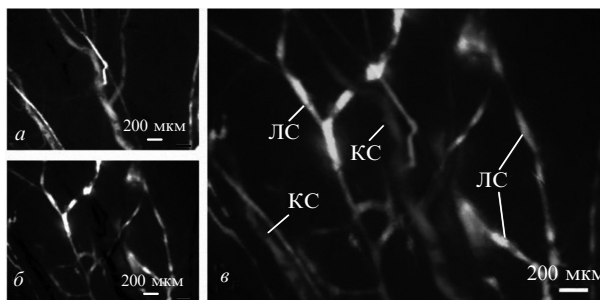


Рис.7. Изображения кровеносных и лимфатических сосудов (ЛС) наружного уха мыши, полученные при одновременном использовании методов ДРС и ФИМ.

хорошо различимы и представляют собой участки повышенной яркости. Монохромное изображение участка наружного уха мыши (рис.7,б) получено методом ФИМ после интрадермального введения микродозы флуоресцентного маркера. Введенный таким образом маркер попадает исключительно в лимфатические сосуды, в результате чего за счет его флуоресценции эти сосуды также хорошо видны (участки высокой яркости).

На рис.7,в представлено изображение кровеносных и лимфатических сосудов, полученное в результате наложения изображений рис.7,а и б. Видно, что совместное применение методов ДРС и ФИМ позволяет одновременно визуализировать капилляры кровеносной и лимфатической систем. При этом удается существенно снизить использование флуоресцентных маркеров, а следовательно, в десятки раз уменьшить токсичность и минимизировать побочные действия, вызываемые применением контрастного флуоресцентного вещества.

6. Заключение

В настоящей работе нами продемонстрирована возможность одновременного использования методов ДРС и ФИМ применительно к задачам сосудистой физиологии. Обе экспериментальные методики хорошо известны и активно задействованы в различных биомедицинских исследованиях, однако их совместное использование в сосудистой физиологии реализовано не было. Данный мультимодальный подход позволяет объединить уникальные возможности каждого из методов, одновременно нивелируя их недостатки, что, в свою очередь, дает дополнительные преимущества в изучении периферического отдела сердечно-сосудистой системы. Мультимодальный подход представляется особенно перспективным и многообещающим для визуализации сосудистого русла, кровотока и лимфотока в естественных условиях in vivo, а также для изучения проницаемости кровеносных сосудов, позволяя наблюдать в режиме реального времени истечение контрастного вещества за пределы сосудов. Кроме того, одновременное использование методов ФИМ и ДРС позволяет отказаться от применения флуоресцентных маркеров для визуализации кровеносных сосудов и, тем самым, существенно (в десятки раз) уменьшить токсичность флуоресцентных веществ и вызываемые их применением побочные действия.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Научно-исследовательского института им. Вайцмана (Weizmann Institute of Science), Израиль, Королевского научного общества (The Royal Society, New Zea-

land) Новой Зеландии и федеральной целевой программы РФ «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (госконтракт № 02.740.11.5136).

1. Приезжев А.В., Тучин В.В., Шубочкин Л.П. *Лазерная диагностика в биологии и медицине* (М.: Наука, 1989).
2. Рогаткин Д.А., Лапаева Л.Г. *Медицинская техника*, **4**, 31 (2003).
3. Тучин В.В. *Оптическая биомедицинская диагностика* (М.: Физматлит, 2007).
4. Куприянов В.В., Караганов Я.Л., Козлов В.И. *Микроциркулярное русло* (М.: Медицина, 1975).
5. Чернух А.М., Александров П.Н., Алексеев О.В. *Микроциркуляция* (М.: Медицина, 1984).
6. Левтов В.А., Ригирер С.А., Шадрин Н.Х. *Реология крови* (М.: Медицина, 1982).
7. Мчедлашвили Г.И. *Капиллярное кровообращение* (Тбилиси, изд-во АН ГрузССР, 1958).
8. Шошенко К.А. *Кровеносные капилляры* (Новосибирск: Наука, 1975).
9. Мчедлашвили Г.И. *Микроциркуляция крови: Обице закономерности регулирования и нарушений* (Л.: Наука, 1989).
10. Козлов В.И. *Движение крови по микрососудам и транскапиллярный обмен* (Л.: Наука, 1984).
11. Ryan T.J., in *Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin*. (Oxford: Oxford Univ. Press, 1991, Vol. 2, p. 817).
12. Rossini A.A., Chick W.L., in *Microcirculation* (Baltimore: Univ. Park Press, 1980, Vol. III, p. 245).
13. Davis E., in *Microcirculation* (Baltimore: Univ. Park Press, 1980, Vol. III, p. 223).
14. Coleridge-Smith P.D., Thomas P.R.S., Scurr J.D., Dormandy J.A. *Br. Med. J.*, **296**, 1726 (1988).
15. Hebert P.C., Qun Hu L., Biro G.P. *CMAJ*, **156**, S27 (1997).
16. Fagrell B. *Annals Biomed. Eng.*, **14**, 163 (1986).
17. Metz S., Ganter C., Lorenzen S., van Marwick S., Herrmann K., Lordick F., Nekolla S.G., Rummeny E.J., Wester H.J., Brix G., Schwaiger M., Beer A.J. *J. Nucl. Med.*, **51**, 1691 (2010).
18. Manning W.J., Li W., Edelman R.R. *N. Engl. J. Med.*, **328**, 828 (1993).
19. Gurfinkel Y.I. *Proc. SPIE Int. Opt. Soc. Eng.*, **4241**, 467 (2001).
20. Rajadhyaksha M., Grossman M., Esterowitz D., Webb R.H., Anderson R.R. *J. Invest. Dermatol.*, **104**, 946 (1995).
21. Bonesi M., Kennerley A.J., Meglinski I., Matcher S. *J. Innov. Opt. Health Sci.*, **2**, 431 (2009).
22. Chen Z., Zhao Y., Srinivas S.M., Nelson J.S., Prakash N., Frostig R.D. *IEEE J. Select. Topics Quantum Electron.*, **5**, 1134 (1999).
23. Приезжев А.В., Романовский Ю.М. *Квантовая электроника*, **5**, 2237 (1978).
24. Boas D.A., Dunn A.K. *J. Biomed. Opt.*, **15**, 011109 (2010).
25. Messmer K. *Orthogonal Polarization Spectral Imaging, Progress in Applied Microcirculation* (Basel: Karger, 2000, Vol. 24).
26. Kalchenko V., Preise D., Bayewitch M., Fine I., Burd K., Harmelin A. *J. Microsc.*, **228**, 118 (2007).
27. Меглинский И.В., Боас Д.А., Йод А.Г., Чанс Б., Тучин В.В. *Изв. вузов ПНД*, **4**, 65 (1996).
28. Snabre P., Dufaux J., Brunel L., in *Waves and Imaging through Complex Media* (New York: Kluwer Acad. Publ., 2001, p. 369).
29. Waller, A.V. *Philosophical Magazine*, **29**, 397 (1846).
30. Sandison J.C. *Anat. Rec.*, **28**, 281 (1924).
31. Ide A.G., Baker N.H., Warren S.L. *Am. J. Roentgenol.*, **42**, 891 (1939).
32. Algire G.H. *J. Natl. Cancer Inst. USA*, **4**, 1 (1943).
33. Algire G.H., Chalkley H.W. *J. Natl. Cancer Inst. USA*, **6**, 73 (1945).
34. Ellinger P., Hirt A. *Anat. Z. Entwickl.*, **90**, 791 (1929).
35. Ellinger P., Hirt A., in *Handbuch der Biologischen Arbeits Methoden* (Berlin and Vienna: Urban and Schwarzenberg, 1930, Abt V, Teil 2, p. 1753).
36. Sherif M. *Nature*, **204**, 390 (1964).
37. Menger M.D., Marzi I., Messmer K. *Europ. Surg. Res.*, **23**, 158 (1991).
38. Steinhäuser M., Zimmerhackl B., Thederan H., Düssel R., Parekh N., Esslinger H.U., von Hagens G., Komitowski D., Dallenbach F.D. *Kidney Int.*, **20**, 230 (1981).
39. Klar E., Endrich B., Messmer K. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.*, **9**, 85 (1990).
40. Kuhnle G.E., Leipfinger F.H., Goetz A.E. *J. Appl. Physiol.*, **74**, 1462 (1993).
41. Tillmanns H., Ikeda S., Bing R.J. *J. Clin. Pharmacol.*, **14**, 426 (1974).
42. Rovainen C.M., Woolsey T.A., Blocher N.C., Wang D.B., Robinson O.F. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **13**, 359 (1993).
43. Von Andrian U.H. *Microcirculation*, **3**, 287 (1996).
44. Kalchenko V., Plaks V. *RMS Proc.*, **40**, 221 (2005).
45. Dobschuetz E., Pahernik S., Hoffmann T., Kiefmann R., Heckel K., Messmer K., Mueller-Hoecker J., Delliane M., in *Leukocyte Trafficking: Molecular Mechanisms, Therapeutic Targets, and Methods* (Weinheim, FRG: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006).
46. Бенедик Дж. *УФН*, **106**, 481 (1972).
47. Камминс Г., Пайк Э. *Спектроскопия оптического смешения и корреляция фотонов* (М.: Мир, 1978).
48. Crosignani B., Porto P.D., Bertolotti M. *Statistical Properties of Scattered Light* (New York: Acad. Press, 1975).
49. Giglio M., in *Laser in Biology and Medicine. Series A: Life Sciences* (New York: Plenum Press, 1980, Vol. 34, p. 111).
50. Cummins H.Z., Swinney H.L., in *Progress in Optics* (New York: Am. Elsevier Publ. Co., 1970, Vol. VIII, p. 135).
51. Лебедев А.Д., Левчук Ю.Н., Ломакин А.В., Носкин В.А. *Лазерная корреляционная спектроскопия в биологии* (Киев: Наукова думка, 1987).
52. Протопопов В.В., Устинов Н.Д. *Лазерное гетеродинамирование* (М.: Наука, 1985).
53. Фомин Н.А. *Спекл-интерферометрия газовых потоков* (Минск: Наука и техника, 1989).
54. Briers J.D. *Physiol. Meas.*, **22**, R35 (2001).
55. Brown W. *Dynamic Light Scattering. The Method and Some Applications* (New York: Oxford Univ. Press, 1993).
56. Ulyanov S., Ganilova Y., Zhu D., Qiu J., Li P., Ulianova O., Luo Q. *Europhys. Lett.*, **82**, 18005 (2008).
57. Meglinski I.V., Tuchin V.V., in *Coherent-Domain Optical Methods* (New York: Kluwer Acad./Plenum Publ., 2004, Vol. 1, Ch. 5, pp. 139–164).
58. Korolevich A.N., Meglinski I.V. *Bioelectrochemistry*, **52**, 223 (2000).
59. Меглинский И.В., Королевич А.Н., Тучин В.В. *Биомедицинская радиоэлектроника*, **10**, 37 (2000).
60. Meglinski I.V., Korolevich A.N., Tuchin V.V. *Crit. Rev. Biomed. Eng.*, **29**, 535 (2001).
61. Alford R., Simpson H.M., Duberman J., Hill G.C., Ogawa M., Regino C., Kobayashi H., Choyke P.L. *Mol Imaging.*, **8**, 341 (2009).
62. Phillips K.P., Zhou W.-L., Baltz J.M. *Zygote*, **6**, 113 (1998).
63. Saetzler R.K., Jallo J., Lehr H.A., Philips C.M., Vasthare U., Arfors K.E., Tuma R.F. *J. Histochem. Cytochem.*, **45**, 505 (1997).
64. Fineschi V., Monasterolo G., Rosi R., Turillazzi E. *Forensic Sci. Int.*, **100**, 137 (1999).