

ПРИМЕНЕНИЕ ЦИФРОВЫХ ВНЕОСЕВЫХ ГОЛОГРАММ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ СОСТОЯНИЯ ЖИВЫХ НЕЙРОННЫХ КУЛЬТУР

© 2013 г. А. И. Рыбников, студент; В. В. Дуденкова, студент; М. С. Муравьева, студент;
Ю. Н. Захаров, канд. физ.-мат. наук

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

E-mail: zhrv@rf.unn.ru

Разработана и собрана установка для получения голограмм живой клеточной культуры методами цифровой и аналоговой голографии. Схема демонстрирует преимущества обоих методов, имеет удобную настройку и контроль ее параметров для регистрации серии цифровых голограмм. Программная обработка полученных результатов позволяет получить информацию об интегральной оптической толщине изучаемых препаратов, визуализировать и измерять изменения в живых нейронных культурах. Проведено исследование и сопоставление изменений структуры и проявлений жизнедеятельности первичной культуры клеток мозга.

Ключевые слова: цифровая голография, голографическая интерферометрия, первичные клеточные культуры.

Коды OCIS: 090.1995, 090.2880

Поступила в редакцию 18.03.2013

Введение

Методы оптической микроскопии занимают прочное место в современных исследованиях в медицине и биологии, так как они позволяют достичь высокого разрешения, минимальных искажений и самое главное – оказывают слабое влияние на процессы жизнедеятельности, а значит, могут быть применены к исследованию живых объектов. Проникающая способность оптической микроскопии сильно ограничена, по этой причине зачастую приходится исследовать тонкие срезы тканей или выращенные планарные первичные культуры интересующих клеток¹ [1, 2]. Поэтому среди всех изучаемых этим методом в биологии и медицине объектов большую часть занимают рассеивающие и прозрачные препараты. Такие малоcontrastные объекты, как например нервные клетки, практически не вносят

изменений в амплитуду зондирующего излучения и их с трудом можно визуализировать при наблюдении в проходящем свете. В классической микроскопии для изучения таких объектов можно применять методы фазового контраста, интерференционного контраста или темного поля [3], которые в определенных пределах позволяют выявить контуры объектов. Они, также как и метод градиентной фазовой микроскопии [4], являются качественными. Однако современный уровень исследований требует количественной информации о сверхмалых изменениях при трехмерной визуализации всего изучаемого препарата.

Высокая чувствительность к изменениям оптической толщины достигается при фазовых измерениях. Существует несколько различных подходов получения количественной информации об оптической толщине объектов микроскопии, каждый из которых имеет свою область применения. Модуляционная интерференционная микроскопия [5] требует определенного времени для записи каждого состояния, и поэтому ее применение ограни-

¹ Первичная культура клеток – метод, позволяющий сохранять жизнеспособность клеток, получаемых от животного, вне организма в питательной среде. Культура клеток применяется для фундаментальных исследований и практических тестов.

чено скоростью протекания процессов. То же самое относится и к методу дефокусировки с помощью пространственного модулятора света [6], который хоть и устраняет необходимость передвижения элементов схемы, используемых в подобных методах восстановления фазы по набору ряда распределений интенсивности (см. литературу к [6]), но, как и предыдущий метод, требует нескольких экспозиций. Дифракционная фазовая микроскопия, основанная на пространственной фильтрации [7], также как и восстановление фазы при одновременной записи осевой голограммы и фотографии микрообъекта [8] позволяет получить точные значения в предположении об однородной прозрачности объекта. К тому же все названные методы, кроме последнего, дают интегральную по оптической оси информацию и даже в принципе не позволяют говорить о трехмерном восстановлении.

Применение голографической интерферометрии в сочетании с микроскопией позволяет проводить качественную и количественную оценки внутренней структуры прозрачных микрообъектов, изменяющих фазу проходящего через них света, в частности, при изучении живых клеток. Несмотря на большой интерес и активное развитие методов голографической микроскопии в исследовании живых систем, работы в этой области имеют до сих пор исследовательский характер и не вышли на уровень серийного производства. Одна из первых и практически единственная в нашей стране разработка голографического микроскопа для исследования клеток крови была осуществлена в ФТИ им. Иоффе [9]. Этот прибор может работать как в режиме аналоговой голографической микроскопии так и в режиме телевизионной электронной спекл-интерферометрии. Последние годы в микроскопии стремительно развиваются методы цифровой голографической микроскопии (ЦГМ) [10, 11]. Цифровая голографическая интерферометрия имеет беспрецедентную для оптических методов чувствительность к изменениям рельефа и оптической разности хода при высоком временном разрешении [12, 13]. Уже первое использование ЦГМ для исследования нейронных культур [14] показало возможность неинвазивного исследования динамики трансформации клеток с интерферометрической точностью в покое и при изменении внешних условий. Опыт применения методов ЦГМ для измерения биофизических параметров живых клеток обобщен в работе [15].

И хотя эти методы перспективны и совместимы с другими методами исследования живых тканей, они пока мало использовались для изучения процессов жизнедеятельности нервных тканей.

Специфика условий содержания, функционирования конкретных живых микрообъектов и моделирования воздействий на них заставляет адаптировать метод исследования под определенные объекты и задачи. Поэтому основной целью проведенной работы являлось осуществление возможности прижизненной визуализации первичных нейронных культур и количественного исследования динамики изменений их оптической толщины. Измерения поведутся на различных стадиях развития культур в невозмущенном состоянии, при их стимуляции и под воздействием различных факторов с целью биофизической интерпретации полученных результатов.

Спецификой изучаемых объектов является необходимость содержания живых культур в питательной среде. Культивирование ведется в чашках Петри под слоем жидкости с открытой поверхностью. Любые вибрации и движение воздуха в лаборатории вызывают волнение поверхности жидкости, что приводит к нестационарным изменениям фазового набега зондирующего объект излучения. При использовании обычных чашек Петри дополнительные искажения вносят оптические неоднородности её дна (перенесение клеток в специальные кюветы оптического качества невозможно без повреждения культуры). Визуализация и измерение фазовых изменений, вызванных самими клетками, дает информацию об их оптической толщине – размерах и показателе преломления, представляющих интерес с точки зрения морфологии и внутриклеточного состава. Единственная возможность проведения интерферометрических измерений мельчайших изменений фазы в этих условиях – метод голографической интерферометрии. Поэтому основными задачами стали адаптация этого метода для визуализации, быстрого и удобного измерения оптических толщин препарата применительно к исследованию живых первичных клеточных культур и решение проблем со всевозможными сопутствующими особенностями, вносящими артефакты в эти измерения. С другой стороны, важнейшим аспектом работы явилась возможность мониторинга изменений с достаточным временным разрешением.

Методы цифровой голографии имеют свои неоспоримые преимущества, однако и у аналоговой голографии есть свои весомые достоинства, например, не достижимая для фотоэлектрических матриц разрешающая способность регистрирующей среды, что приводит к весьма значительному повышению информационной емкости голограммы. В собранной в ходе выполнения работы схеме совмещены преимущества обоих методов. Регистрирующей средой может быть галогенидосеребряная эмульсия голографической фотопластинки – в этом случае записывается физическая (аналоговая) голограмма. Когда для регистрации голограммной структуры используется фотоэлектрическая (ПЗС или КМОП) матрица, оцифрованный сигнал формирует двумерный массив чисел – цифровую голограмму.

Оптическая схема записи голограмм

На рис. 1 представлена принципиальная схема для получения цифровых и традиционных физических голограмм.

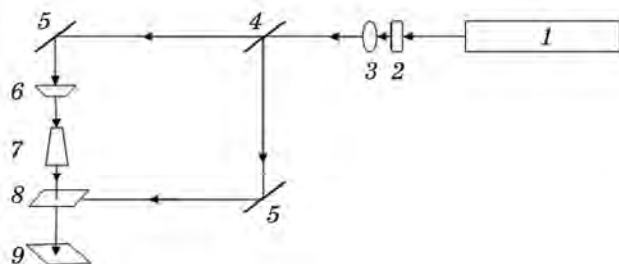


Рис. 1. Принципиальная оптическая схема голографической установки. 1 – He-Ne лазер, 2 – микробъектив, 3 – линза, 4 – светоделительная пластинка, 5 – зеркала, направляющие пучок, 6 – чашка Петри с объектом, 7 – объектив, 8 – полупрозрачное зеркало, совмещающее предметный и опорный пучки, 9 – регистрирующая среда (голографическая фотопластинка или КМОП-матрица).

Отличительной особенностью данной схемы является то, что она предназначена для записи голограмм живых микрообъектов, находящихся в жидкой среде (как правило, клеточная культура находится в чашке Петри с питательным раствором). Поэтому принципиальным является горизонтальное положение объекта 6, предметный луч на него падает вертикаль-



Рис. 2. Фотография установки.

но, вследствие этого конструктивно не удастся разместить элементы схемы в одной плоскости и установка представляет собой трехмерную конструкцию (рис. 2). Также из-за микроскопических размеров объекта применяется увеличивающий объектив 7, который строит увеличенное изображение объекта в плоскости фотоприемника 9. В данной схеме используется объектив Zeiss ACHROPLAN 40^{*}/0.8), конструкция схемы позволяет установить объектив с любым доступным увеличением. Так как предполагается использование внеосевой схемы Лейта–Упатниекса, то накладывается ограничение на ширину спектра пространственных частот объекта [16]. Максимальная частота не может превышать несущей частоты голограммной структуры. Поэтому требуется увеличение изображения объекта, так как он, в особенности его детали – мелкие. В аналоговой голографии для увеличения разрешающей способности можно увеличить угол схождения, но это недопустимо в ЦГМ вследствие весьма низкой (для голографии) разрешающей способности матрицы. Таким образом, необходимо увеличивать изображение, снижая тем самым максимальные пространственные частоты, для того чтобы пространственный спектр изображения был не шире 1/3 несущей частоты.

Вследствие низкой светочувствительности голографических фотоматериалов для записи аналоговых голограмм нестационарных объектов необходимы мощные импульсные лазеры. Это ограничивает применение аналоговой голографии для исследования живых систем. Зато для фиксированных препаратов (обработанных специальным образом с целью сохранения их структуры в неизменном состоянии) она дает непосредственно наблюдаемый, наглядный результат и служит весьма удобным средством визуального контроля правильности всех стадий цифровой голографии.

Программа восстановления и обработки цифровых голограмм

Восстановление голограммы вычислительными методами симулирует её освещение плоской волной, выделение из дифрагированного излучения информационного порядка и восстановление изображения, т. е. получение распределения интенсивности зондирующего объекта и его фазового портрета – распределение интегрального набега фазы в поперечном сечении прошедшего сквозь объект пучка.

Голограмма является зарегистрированным распределением интенсивности интерференции опорной и объектной волн. В цифровой голографии голограмма представляет собой массив чисел, отображающих голограммную структуру, линейно связанных с интенсивностью падающего на светочувствительную матрицу излучения. Каждое число массива линейно связано с интенсивностью излучения I , регистрируемого соответствующим пикселом матрицы.

В рассматриваемом случае записи внеосевой голограммы с углом схождения пучков θ

$$I = R_0^2 + |O|^2 + OR_0 \exp(2\pi i\eta y) + O^* R_0 \exp(-2\pi i\eta y). \quad (1)$$

Здесь несущая пространственная частота голограммы

$$\eta = \sin \theta / \lambda. \quad (2)$$

В качестве опорной волны используется плоская световая волна с комплексной амплитудой $R = R_0 \exp(-2\pi i\eta y)$, длина волны – λ . От объекта в плоскость регистрации попадает излучение с комплексной амплитудой O , являющейся комплексной функцией координат.

Выражение (1) описывает исходные данные для восстановления записанной цифровой голограммы. Далее используем алгоритм двойного преобразования Фурье с фильтрацией в частотной плоскости [17]. Программа на языке C++ позволяет загрузить записанную в формате .bmp голограмму, программно провести необходимые преобразования и в результате получить восстановленный фазовый портрет объекта.

Первый этап восстановления – вычисление преобразования Фурье от распределения интенсивности (1)

$$F[I] = F[R_0^2 + |O|^2] + F[OR_0] \otimes \delta(f_y - \eta) + F[O^* R_0] \otimes \delta(f_y + \eta), \quad (3)$$

где символом $F[...]$ обозначена операция преобразования Фурье. Первое слагаемое локализовано вокруг начала координат частотной плоскости. Второе и третье, представляющие собой свертки с дельта-функцией пространственной частоты f_y , локализованы симметрично вокруг точек $\pm\eta$. Этот факт используется в алгоритме восстановления, и следующим его этапом является фильтрация спектра. Для восстановления голограммы представляет интерес второе слагаемое (3), так как оно содержит фурье-образ комплексной амплитуды объектной волны. Операция фильтрации оставляет без изменений его компоненты, обращая в ноль все остальные. В результате получается спектр объектной волны, сдвинутый по частоте на величину, определяемую выражением (2). Устранение этого сдвига необходимо для правильного, без дополнительного линейного набега, восстановления распределения фазы, соответствующего объектной волне. Выполнение обратного преобразования Фурье над фильтрованным и центрированным спектром дает комплексную амплитуду объектной волны. Таким образом, цифровая голография позволяет получать распределение фазы объектной волны по одной единственной голограмме, однако в реальности объектный пучок искажается различного рода помехами, вносимыми элементами оптической установки. Двухэкспозиционная голографическая интерферометрия устраняет помехи, вносимые оптической схемой [16]. Компьютерная обработка позволяет вычислять разность фаз непосредственно из данных восстановления цифровых голограмм, получая интерферограмму с тангенциальным распределением интенсивности полос, которое однозначно указывает направление роста фазы.

Пусть имеется два распределения комплексной амплитуды волн, восстановленных с голограмм, полученных при одних и тех же условиях: одно – с голограммы объекта, зарегистрированной реальной, вносящей помехи, установкой, другое – с голограммы, полученной на той же установке, но без объекта, и содержащей, таким образом, все фазовые набеги и амплитудные искажения, вносимые схемой. Оба эти распределения представлены в виде массивов комплексных чисел. Для получения

оптической толщины объекта необходимо вычислить разность фаз этих двух волн.

Запишем разность фаз и выполним тождественное преобразование (все величины, имеющие индекс «1», относятся к первой волне, величины имеющие индекс «2» – ко второй, φ – фаза)

$$\Delta\varphi_{1,2} = \varphi_1 - \varphi_2 = \arctg[\operatorname{tg}(\varphi_1 - \varphi_2)]. \quad (4)$$

Применяя тригонометрическое тождество, получаем

$$\begin{aligned} \Delta\varphi_{1,2} &= \arctg\left(\frac{\operatorname{tg}\varphi_1 - \operatorname{tg}\varphi_2}{1 + \operatorname{tg}\varphi_1 \operatorname{tg}\varphi_2}\right) = \\ &= \arctg\left(\frac{\operatorname{Im}_1 \operatorname{Re}_2 - \operatorname{Im}_2 \operatorname{Re}_1}{\operatorname{Im}_1 \operatorname{Im}_2 + \operatorname{Re}_1 \operatorname{Re}_2}\right), \end{aligned} \quad (5)$$

где приняты следующие обозначения: Im – мнимая часть комплексного числа, Re – действительная часть комплексного числа. Такой вид интерферограммы позволяет провести процедуру, известную как разворачивание фазы (*phase unwrapping* [18]), для получения неразрывного фазового портрета.

Для отладки алгоритма были использованы синтезированные цифровые голограммы с заданными параметрами. Они имитировали запись голограмм на цифровой матрице 1024×1024 с размером пиксела $2,2 \text{ мкм}$. Были

созданы цифровые голограммы с различными углами схождения опорного и объектного пучков. На рис. 3а приведено распределение голограммной структуры, полученной при угле схождения 6° , и ее увеличенный фрагмент (рис. 3д). На рис. 3б представлено распределение голограммной структуры, полученной при угле схождения $0,5^\circ$, фурье-образы голограмм при углах схождения 6° и $0,5^\circ$ – на рис. 3в, г. Отчетливо видны три порядка дифракции – нулевой и порядки, соответствующие сходящейся и расходящейся объектной волне. При уменьшении угла схождения расстояние между порядками дифракции в спектральной области сокращается. Следовательно, при достижении некоторого порогового угла схождения, связанного с протяженностью порядков фурье-образов, возможно их перекрытие, вследствие чего описанный алгоритм не будет применим. Также имеется максимально допустимый угол схождения, связанный с частотой дискретизации отсчетов цифровой матрицы, т. е. с расстоянием между пикселями. При превышении этого угла происходит нарушение теоремы отсчетов [19] и возникает явление наложения спектральных копий, что не позволяет провести восстановление такой голограммы.

Ограничение допустимого диапазона углов приводит к необходимости выбора некоторого угла схождения, позволяющего не нарушить условия теоремы дискретизации и, в то же время, обеспечивающего разделение порядков восстановленного изображения с максимально возможной шириной спектра.

В описанном выше случае оптимальный угол схождения опорной и предметной волн получается около 6° . Фильтрация информационного порядка приводит при этом к поперечному разрешению в восстановленном изображении $0,6 \text{ мкм}$ (с применением объектива $40\times$ для увеличения изображения при записи голограммы).

Измерения и результаты

Объектом исследования являлись первичные клеточные культуры клеток гиппокампа мозга мышей. Приведенные здесь результаты относятся к спонтанной активности, т. е. поведению клеток в отсутствие внешнего воздействия на культуру в процессе измерений. Проведенные ранее исследования (функцио-

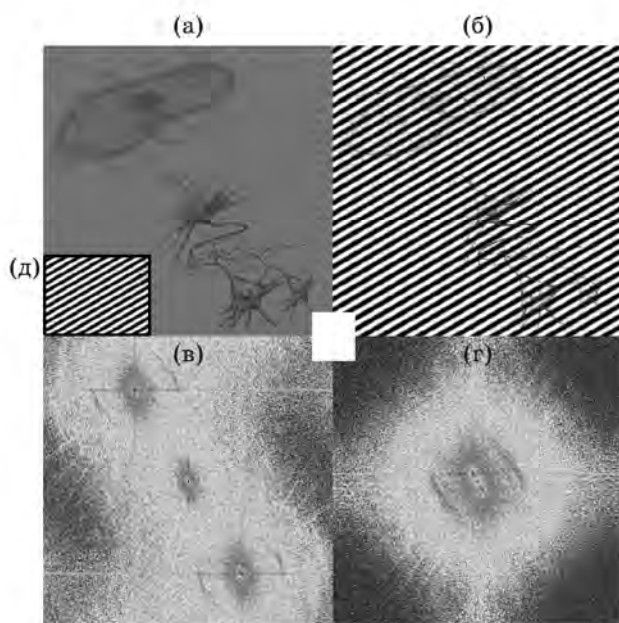


Рис. 3. Голограммная структура внеосевых голограмм с углами схождения 6° (а, д – ее увеличенный фрагмент), $0,5^\circ$ (б) и их фурье-образы (соответственно – в, г).

нальный мультиклеточный кальциевый имиджинг) в таких культурах [20] показали, что наличие и характер изменения внутриклеточной концентрации ионов кальция (кальциевых осцилляций) связаны со структурной организацией клеточных сетей, но традиционная оптическая микроскопия не позволяла проследить изменения формы и объема самих клеток в масштабе времени кальциевых осцилляций. В то же время известно, что эти изменения клеток могут влиять на их возбудимость, работу рецепторов, ионных каналов и других механизмов, что, в конечном счете, обеспечивает другой уровень функционирования клетки как живой системы. Естественный интерес вызывает прижизненный анализ таких изменений клеток в связи с их функциональными особенностями на различных стадиях развития нейронных культур в норме и патологии, а также оказываемого на них биохимического воздействия.

Для этого осуществлялась запись временной серии цифровых голограмм голографической установкой (рис. 1, 2) с бескорпусной камерой VEI-535 производства ЗАО «ЭВС» (Санкт-Петербург), фотоприемником которой является КМОП-матрица OV5610 фирмы *OmniVision* формата 1/1.8 дюйма, число пикселей 2592×1944. Для контроля также велась регистрация в той же конфигурации схемы аналоговых голограмм на фотопластинки ПФГ-01. При малых углах сходимости предметного и опорного пучков на них отсутствуют искажения, связанные с ограниченной разрешающей способностью регистрирующей среды и дискретизацией записи. Это позволяло контролировать наличие артефактов дискретизации и конечной ширины спектра цифровых голограмм. Восстановленное изображение физической голограммы легко перестраивается по глубине, что дает возможность проверить соблюдение фокусировки изображения в плоскости регистрации. Однако киноголография на этой основе требует дополнительных и весьма серьезных ухищрений [21–23], тогда как запись временной серии цифровых голограмм нестационарного объекта ничуть не сложнее его одиночной записи. Запись велась с частотой 1 кадр в секунду. Также осуществлялась регистрация голограммы в отсутствии объекта для получения интерферограмм и восстановления динамики оптической толщины (фазовых портретов) объекта.

Пример таких интерферограмм для трех моментов времени: на первой, двадцать первой и

пятьдесят девятой секунде записи и соответствующих им фазовых портретов, полученных в результате разворачивания фазы, приведен на рис. 4. По горизонтальным осям отложены координаты в плоскости клеточной культуры. По вертикали – вариации интегрального фазового набега φ в пределах рассматриваемой области, которые связаны с изменениями оптической толщины l_{opt}

$$\varphi = \frac{2\pi}{\lambda} \int_0^h \Delta n_i dz = \frac{2\pi}{\lambda} \langle \Delta n_i \rangle h = \frac{2\pi}{\lambda} l_{opt}, \quad (6)$$

где h – толщина клетки, $\langle \Delta n_i \rangle$ – средний относительный показатель преломления, $\Delta n_i = n_i - n_m$, n_i – показатель преломления внутриклеточного содержимого, n_m – показатель преломления питательной среды, в которой находится культура.

В отличие от микрофотографий и фотографий интенсивности восстановленных голографических изображений этих микрообъектов здесь ясно видны изменения оптической толщины в масштабе времени порядка секунд и минут. Параллельная запись временных серий изображений флуоресцентного микроскопа LSM510 позволяет сделать выводы о связи скорости и вида изменений оптической толщины клеток с характером кальциевых осцилляций сетей клеток мозга в процессе развития, воздействия негативных факторов, а также биохимического воздействия на первичную культуру клеток гиппокампа.

К сожалению, методика не позволяет определить отдельно изменения h и $\langle \Delta n_i \rangle$. Предложенный в работе [14] метод применим лишь при отсутствии спонтанной активности, являвшейся в данной работе предметом исследования. Однако и наблюдения изменений оптической толщины при высокой чувствительности позволяют получить новую биологическую информацию и сделать новые для нейробиологии выводы.

Анализ и выводы

Анализ временного ряда фазовых портретов клеточных культур в сравнении с кальциевой динамикой показывает, что наличие одиночных кальциевых осцилляций, характерных для нормального состояния культуры, соответствуют медленные (порядка нескольких минут) и небольшие изменения оптической толщины

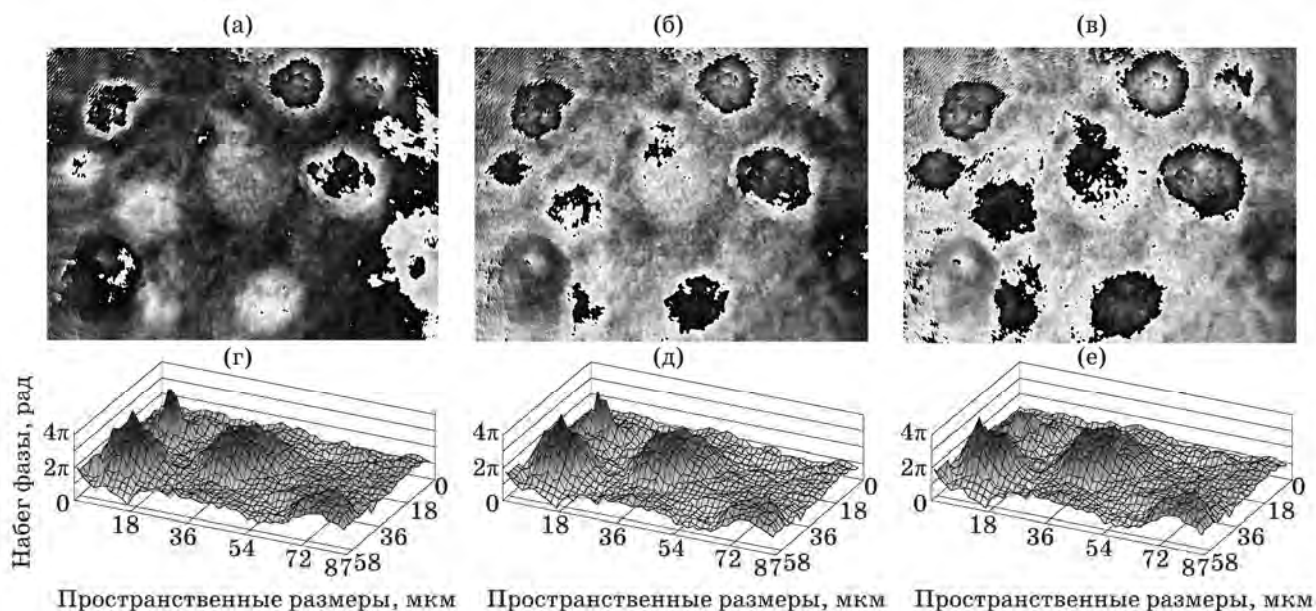


Рис. 4. Интерферограммы (а, б, в) и реконструкция оптической толщины (г, д, е) первичной культуры гиппокампа мозга мыши, подвергнутой гипоксии с блокированием рецепторов SR2 через 20 с (б, д) и 58 с (в, е) после момента времени, соответствующего состояниям (а и г).

клеток и межклеточной среды (что, однако, при высокой чувствительности метода может быть вызвано и недостаточной стабильностью условий записи). Введение модулятора активности нейронов (в данном случае, арахидоноилдофамина [24]) приводит к возникновению сверхмедленных комплексных кальциевых осцилляций (см. [20]) длительностью от 30 до 60 с. При этом фазовые измерения показывают квазипериодическое изменение оптической толщины клеток в сопоставимых с этими масштабах времени, что может быть вызвано изменением формы клеток или их биохимического состава, влияющего на показатель преломления. Такой патологический процесс как гипоксия (недостаточное снабжение кислородом) также приводит к появлению комплексных кальциевых осцилляций, но еще более длительных – характерное время порядка 100 с. А изменения оптической толщины ускоряются – период колебаний составляет 10–15 с. Введение некоторых блокаторов клеточных рецепторов укорачивает длительность комплексных осцилляций и замедляет колебания оптической толщины. Как раз этому случаю соответствуют интерферограммы и фазовые портреты, приведенные на рис. 4.

Таким образом, созданная для исследования нервной ткани в виде первичных клеточных культур голографическая установка по-

зволяет провести трехмерную визуализацию объекта. Также появляется возможность не только оценить его пространственные масштабы, но и осуществить наблюдение и измерение изменений размера и формы клеток, происходящих с течением времени в клетках самопроизвольно и при различного рода воздействий на них. Разработанная методика в приложении к исследованию первичных культур нервных клеток делает возможным более пристальное изучение взаимосвязи внутриклеточных процессов и динамики клеточной активности, детектируемых развитыми методами, с тонкими структурными изменениями. Измерение мельчайших изменений становится возможным благодаря цифровой голографической микроскопии, что в совокупности с биологической интерпретацией результатов будет способствовать более глубокому пониманию принципов работы клеток мозга.

Авторы выражают благодарность за предоставленные биоматериалы, участие в эксперименте и обсуждении результатов научному сотруднику Е.В. Митрошиной и проф. И.В. Мухиной (Нижегородская государственная медицинская академия).

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 8055.

ЛИТЕРАТУРА

1. Культура животных клеток. Методы. / Под ред. Фрешни Р. М.: Мир, 1989. 333 с.
2. Ведунова М.В., Коротченко С.А., Балашова А.Н., Исакова А.И., Хаспеков Л.Г., Казанцев В.Б., Мухина И.В. Влияние кратковременной глюкозной депривации на функционирование нейронной сети первичной культуры гиппокампа на мультиэлектродной матрице // Современные технологии в медицине. 2011. № 2. С. 7–13.
3. Франсон М. Фазово-контрастный и интерференционный микроскопы. М.: Гос. изд-во физ.-мат. литературы, 1960. С. 180.
4. Kim T., Sridharan S., Kajdacsy-Balla A., Tangella K., Popescu G. Gradient field microscopy for label-free diagnosis of human biopsies // Appl. Opt. 2013. V. 52. № 1. P. A92–A96.
5. Andreev V.A., Indukaev K.V. Phase modulation microscope MIM-2.1 for measurements of surface microrelief. General principles of design and operation // Journal of Russian Laser Research. 2005. V. 26. P. 380–393.
6. Camacho L., Mico1 V., Zalevsky Z., Garcia J. Quantitative phase microscopy using defocusing by means of a spatial light modulator // Opt. Exp. 2010. V. 18. № 7. P. 6755–6766.
7. Popescu G., Ikeda T., Dasari R.R., Feld M.S. Diffraction phase microscopy for quantifying cell structure and dynamics // Opt. Lett. 2006. V. 31. № 6. P. 775–777.
8. Lobyntseva V. V., Zakharov Yu. N. Phase visualization in the study of cellular structures by confocal microscopy // Physics of Wave Phenomena. 2011. V. 19. № 1. P. 10–12.
9. Константинов В.Б., Бабенко В.А., Малый А.Ф. Голографический интерференционный микроскоп для исследования микрообъектов // ЖТФ. 2007. Т. 77. № 12. С. 92–95.
10. Kim M.K. Principles and techniques of digital holographic microscopy // SPIE Reviews. 2010. V. 1. P. 018005-1 – 018005-50.
11. Digital Holography and 3-D Imaging (Feature Issue) // Appl. Opt. 2013. V. 52. № 1. P. A1–A440.
12. Редкоречев В.И., Кулагин И.А., Гуревич В.С., Гусев М.Е., Захаров Ю.Н. Цифровая пикосекундная трехцветная голографическая интерферометрия // Опт. и спектр. 2009. Т. 107. № 3. С. 433–437.
13. Гуревич В.С., Гапонов В.Е., Редкоречев В.И., Захаров Ю.Н. Измерение параметров поверхностных акустических волн в кристаллах голографическим методом // Известия ВУЗов. Материалы электронной техники. 2012. № 1. С. 26–32.
14. Rappaz B., Marquet P., Cuche E., Emery Yv., Depeursinge Ch., Magistretti P.J. Measurement of the integral refractive index and dynamic cell morphometry of living cells with digital holographic microscopy // Opt. Exp. 2005. V. 13. № 23. P. 9361–9373.
15. Rappaz B., Depeursinge Ch., Marquet P. Digital holographic microscopy (DHM) for measuring biophysical parameters of living cells // Biomedical Optical Phase Microscopy and Nanoscopy / Ed. by Shaked N.T., Zalevsky Z., Sattewhite L.L. AP: Elsevier, 2013. Chapter 5. P. 71–95.
16. Кольер Р., Беркхарт К., Лин Л. Оптическая голография. М.: Мир, 1973. 688 с.
17. Alexeenko I., Gusev M., Gurevich V. Separate recording of rationally related vibration frequencies using digital stroboscopic holographic interferometry // Appl. Opt. 2009. V. 48. № 18. P. 3475–3480.
18. Nadeborn W., Andra P., Osten W. A robust procedure for absolute phase measurement // Opt. Lasers Eng. 1996. V. 24. P. 245–260.
19. Марпл-мл. С.Л. Цифровой спектральный анализ и его приложения. М.: Мир, 1990. С. 53–57.
20. Захаров Ю.Н., Митрошина Е.В., Ведунова М.В., Коротченко С.А., Калинин Я.И., Потанина А.В., Мухина И.В. Флуоресцентный анализ паттернов метаболической активности нейрон-глиальной сети // Оптический журнал. 2012. Т. 79. № 6. С. 47–51.
21. Захаров Ю.Н., Менсов С.Н. Применение сканирующих интерферометров Фабри–Перо в задачах регистрации быстропротекающих процессов // ЖТФ. 1982. Т. 52. № 5. С. 992–995.
22. Захаров Ю.Н., Сорокин Ю.М., Сучкин Ф.Г. Мультиплексные киноголограммы эволюции оптического разряда // Применение методов голографии в науке и технике. Л.: ФТИ им. Иоффе, 1987. С. 78–82.
23. Захаров Ю.Н., Сорокин Ю.М. Миллисекундная киноголография коллективного оптического разряда // Оптика атмосферы. 1989. Т. 2. № 2. С. 180–187.
24. Митрошина Е.В., Ведунова М.В., Миронов А.А., Сахарнова Т.А., Пимашкин А.С., Бобров М.Ю., Хаспеков Л.Г., Мухина И.В. Нейропротекторное действие каннабиноида N-арахидоноилдофамина при моделировании острой гипобарической гипоксии мозга // Нейрологический вестник. 2012. Т. 44. № 1. С. 14–20.