

# Nieinwazyjne metody oceny mikrokrążenia siatkówkowego

## Non-invasive methods for the assessment of retinal microcirculation

Adrian Ireneusz Stefański<sup>1</sup>, Joanna Harażny<sup>2, 3</sup>, Krzysztof Narkiewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

<sup>2</sup>Katedra Patofizjologii Wydziału Nauk Medycznych Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

<sup>3</sup>Clinical Research Center, Department of Nephrology and Hypertension, University Erlangen-Nuernberg, Erlangen, Niemcy

### STRESZCZENIE

Wyjątkowa dostępność układu naczyniowego siatkówki pozwala na ocenę przepływu krwi wieloma nieinwazyjnymi metodami. Dzięki anatomicznemu i funkcjonalnemu podobieństwu mikrokrążenia siatkówkowego do innych naczyń w organizmie stwierdzenie nieprawidłowości w jego zakresie sugeruje ich występowanie również w innych tętnicach, które są trudniej dostępne w badaniu. Od czasu zbudowania przez Helmholtza pierwszego oftalmoskopu badanie naczyń siatkówki przeszło ogromną rewolucję, zwłaszcza w ostatnich 30 latach.

Laserowa przepływometria dopplerowska służy ocenie przepływu erytrocytów poprzez ocenę odbicia czerwonych krwinek przepływających w naczyniu w stosunku do nieruchomej powierzchni. Metoda ta umożliwia ocenę przepływu w obrębie skóry lub jamy ustnej, ale także ukrwienie uszkodzonych narządów. Dzięki skaningowej laserowej przepływometrii dopplerowskiej bada się chociażby współczynnik wyrażający stosunek grubości ściany naczynia do średnicy jego światła, standaryzując tym samym pomiar, który w związku z potencjalnie różnym kalibrem badanego naczynia i odległości od tarczy nerwu wzrokowego w miejscu badania byłby mało porównywalny między pacjentami. System dwuwiązkowego doplera w połączeniu z optyczną tomografią koherentną pozwala na bardzo szczegółowe obrazowanie i ocenę siatkówki. Stosuje się go przede

wszystkim do oceny całkowitej prędkości przepływających komórek krwi.

Niektóre z powyższych technik mają zastosowanie jedynie naukowe i służą lepszemu zrozumieniu budowy i funkcji siatkówki, inne są stosowane w praktyce klinicznej w celu oceny zarówno strukturalnych, jak i czynnościowych zaburzeń układu tętniczego.

*Choroby Serca i Naczyń 2017, 14 (6), 333–338*

**Słowa kluczowe:** mikrokrążenie siatkówkowe, skaningowa laserowa przepływometria dopplerowska, laserowa przepływometria dopplerowska

### ABSTRACT

Exceptional availability of retinal vasculature allows to evaluate blood flow using many noninvasive techniques. Due to anatomical and functional resemblance of retinal microcirculation to other vessels, any abnormalities found within its range suggests occurrence also in other arteries which are not to available for testing. Since the time when Helmholtz build the first ophthalmoscope, retinal vessels examination developed enormous revolution, especially during last 30 years.

Laser Doppler flowmetry evaluates erythrocytes movement by scanning a reflection made by moving red blood cells comparing to nonmoving surface. This method allows the examination of blood flow within the skin or oral cavity, but also blood supply of damaged organs. Scanning lased Doppler flowmetry enables the measurement of wall-to-luman ratio which standardizes the examination, which could be otherwise non-comparable between patients due to potentially different vessel diameter and distance from the optic nerve.

#### Adres do korespondencji:

lek. Adrian Ireneusz Stefański  
Katedra Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii  
Gdański Uniwersytet Medyczny  
ul. Dębinki 7c, 80–952 Gdańsk  
tel./faks 58 349 25 03  
e-mail: stefadr@o2.pl

**Dual-beam Doppler with optical coherence tomography allows very detailed evaluation of retina. First of all it is used to measure total velocity of blood cells flow.**

**Some of the above techniques apply only for scientific purpose, in order to enhance the understanding of retinal construction and function, the others are used**

**in clinical practice to evaluate both structural and functional disturbances in arteries.**

*Choroby Serca i Naczyń 2017, 14 (6), 333–338*

**Key words: retinal microcirculation, scanning laser Doppler flowmetry, laser doppler flowmetry**

## WPROWADZENIE

Tętnice siatkówki, dzięki swojej unikatowej dostępności, umożliwiają łatwą ocenę wcześniej pojawiających się *in vivo* zmian naczyniowych. Ponieważ naczynia te są zarówno anatomicznie, jak i funkcjonalnie zbliżone do innych, ważnych klinicznie, a trudniej dostępnych w badaniu tętnic występujących, na przykład, w układzie sercowo-naczyniowym lub ośrodkowym układzie nerwowym, to stwierdzenie w ich przypadku zmian patologicznych pozwala podejrzewać ich występowanie również w innych naczyniach [1]. Dodatkowo zmiany patologiczne stwierdzane podczas oceny mikrokrążenia siatkówkowego są jednymi z pierwszych oznak uszkodzenia narządowego, które mogą wyprzedzać, na przykład, obecność proteinurii [2].

Ocenę dna oka wykonuje się od czasu skonstruowania przez Helmholtza pierwszego oftalmoskopu w 1851 roku. Mimo że było to badanie bardzo mało dokładne i znacznie ograniczone, to pozwalało choć w minimalnym stopniu ocenić uszkodzenie krążenia siatkówkowego w przebiegu przeróżnych chorób [3, 4]. W 1939 roku Keith, Wagener i Barker przedstawili 4-stopniową klasyfikację angiopatii nadciśnieniowej oraz związek między kolejnymi stadiami uszkodzenia krążenia siatkówkowego a zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym. Przez lata nastąpił ogromny postęp zarówno pod względem ilości informacji, jakie można uzyskać poprzez badanie naczyń siatkówki, jak i jakości danych prognostycznych uzyskiwanych na temat innych obszarów krążenia i powikłań narządowych. Obecnie do dyspozycji jest wiele narzędzi umożliwiających ocenę średnicy naczynia, grubości jego ściany czy prędkości przepływu krwi na podstawie oceny przepływających erytrocytów lub leukocytów [2].

Siatkówkę unaczyniają dwa systemy naczyniowe — naczyniówka, która zaopatruje przede wszystkim czopki i pręciki, oraz tętnica środkowa siatkówki głównie odżywiająca tkankę nerwową w warstwach wewnętrznych. Oba systemy różnią się także pod względem wartości

przepływu krwi, który jest znacznie wyższy w naczyniówce niż w naczyniach siatkówki. W naczyniówce występują również istotnie niższe różnice w utlenowaniu krwi między naczyniami tętniczymi i żylnymi. W związku z powyższym przy ocenie mikrokrążenia siatkówkowego bardzo ważne jest dokładne określenie miejsca pomiaru w celu eliminacji wpływu naczyniówki [5].

## BADANIE OFTALMOSKOPEM I W LAMPIE SZCELINOWEJ

Jak wyżej wspomniano, pierwszy oftalmoskop został skonstruowany w 1851 roku przez niemieckiego lekarza, fizjologa i fizyka Hermanna von Helmholtza. Aparat składał się z układu wklęsłego i skupiającego układu luster, umożliwiając oglądanie dna oka. Współczesne oftalmoskopy nieznacznie zmieniły się co do zasady działania, a ich główna zaleta polega na możliwości wstępnej oceny dna oka przy łóżku chorego lub w gabinecie lekarskim. W przypadku stwierdzenia nieprawidłowości lub ich uzasadnionego podejrzenia należy przeprowadzić badanie dna oka w lampie szczelinowej. Dzięki specjalnym soczewkom możliwe jest dość dokładne zbadanie dna oka z oceną przede wszystkim obrazu naczyń siatkówki. Na tej podstawie możliwe jest stwierdzenie na przykład cech retinopatii nadciśnieniowej. W trakcie badania można zauważyć różnego stopnia zwężenie tętniczek oraz zmianę refleksu ze światła tętniczki, co świadczy o pogrubieniu jej ściany, na przykład w przebiegu przewlekłego nadciśnienia tętniczego. Wadą stosowania lampy szczelinowej jest konieczność dysponowania specjalistycznym sprzętem oraz konieczność rozszerzenia źrenicy, co u niektórych pacjentów, na przykład ze zdiagnozowaną jaskrą pierwotną, jest przeciwwskazane [4].

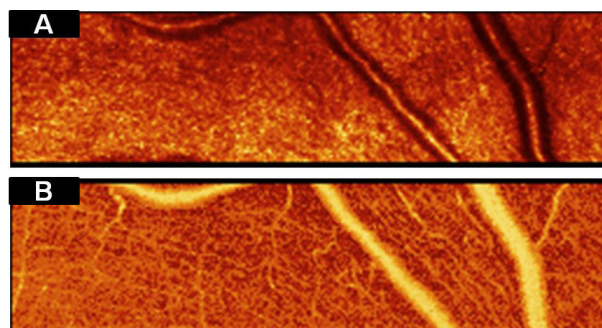
## LASEROWA PRZEPLYWOMETRIA DOPLEROWSKA

Jedną z pierwszych nieinwazyjnych metod oceny lokalnego przepływu tkanek była laserowa przepływometria dopplerowska (LDF, *laser Doppler flowmetry*). Pierwsze próby jej stosowania sięgają lat 70. ubiegłego wieku, ale

dopiero na początku lat 80. tegoż wieku rozpoczęto jej powszechniejsze wykorzystywanie w badaniach przepływów w tkankach i narządach. W metodzie tej jako źródło światła wykorzystuje się laser helowo-neonowy o długości fali od 633 nm do 780 nm [5]. Światło zostaje następnie odbite od przemieszczających się w naczyniach czerwonych krwinek oraz stałej, nieruchomej powierzchni skóry. Wyniki badania doplerowskiego zostają przedstawione jako wartości przepływu erytrocytów wyrażone w arbitralnych (relatywnych) jednostkach perfuzji (PU, *perfusion units*; AU, *arbitrary units*) wynikających z braku możliwości kalibracji pomiaru do jednostek fizjologicznych. Metoda ta znalazła zastosowanie przede wszystkim w nieinwazyjnej ocenie lokalnego przyływu w obrębie skóry, ale także jamy ustnej, okolic oblączka pod paznokciem oraz do inwazyjnego badania śródoperacyjnego narządów wewnętrznych, na przykład, serca, nerek, mózgu, kości lub jelit [5, 6]. Można ją stosować do oceny przepływu krwi w uszkodzonych tkankach i narządach, określając tym samym ich ukrwienie, na przykład w narządach po przeszczepieniu lub miazgi zębów po urazie. Trudności w ocenie stwarza fakt, że badany obszar powinien pozostawać w całkowitym bezruchu, w przeciwnym wypadku ruch badanego obszaru tworzy artefakty, które, nakładając się na pomiar, zmieniają jego wynik. Ponieważ metoda służy ocenie jedynie małej badanej objętości, a co za tym idzie — tylko przepływu w mikroskopijnych naczyniach, to obecność większych naczyń w badanym polu może zaburzać wynik pomiaru. Na ocenę mogą też wpływać zarówno choroby układowe, takie jak cukrzyca czy nadciśnienie tętnicze, jak i lokalne zmiany zapalne [7].

### Skaningowa laserowa przepływometria doplerowska

Rozwinięciem LDF jest skaningowa laserowa przepływometria doplerowska (SLDF, *scanning laser Doppler flowmetry*). Metoda ta przy użyciu aparatu *Heidelberg retina flowmeter* (HRF) pozwala na ocenę nie tylko parametrów mikrokrążenia siatkówkowego, ale również morfologii tętniczek siatkówki (przez pomiar przekrojów zewnętrznego i wewnętrznego, wyliczenia grubości ściany, a szczególnie współczynnika grubości ściany naczynia do średnicy jego światła [WLR, *wall-to-lumen ratio*] i pola powierzchni przekroju poprzecznego ściany tętniczek) [6]. Aparat wykonuje powyższe pomiary, oceniając odbicie światła przez elementy morfotyczne krwi oraz efektu Dopplera (ryc. 1). Pomiary wykonuje się najczęściej przy długości fali 670 nm, ale niekiedy stosowana jest długość



**Rycina 1A.** Zdjęcie z dna oka uzyskane ze światła odbitego; **B.** Zdjęcie przepływu uzyskane z analizy efektu Dopplera

780 nm. Do badania można wybrać dowolny fragment siatkówki dna oka, przeważnie w odległości 2–3 mm od tarczy nerwu wzrokowego, chyba że uniemożliwiają to warunki anatomiczne lub patologia badanego oka. W większości badań oceniano górną tętnicę skroniową w prawym oku. Zbadana zostaje tkanka o objętości  $2560 \mu\text{m} \times 640 \mu\text{m} \times 300 \mu\text{m}$ , w przestrzeni trójwymiarowej w czasie 2 s, a następnie obraz zostaje uśredniony do płaszczyzny dwuwymiarowej na głębokości  $300 \mu\text{m}$ . Rozdzielczość obrazu wynosi  $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$ , co odpowiada wartości 1 piksel [6, 8, 9]. Dalsza analiza zdjęcia zostaje przeprowadzona przy użyciu programu do automatycznej analizy pełnych pól obrazów perfuzji (AFFPIA, *automatic full field analysis of perfusion images*). W pierwszej kolejności możliwa jest automatyczna identyfikacja i odrzucenie pikseli, które zostały prześwietlone lub są zbyt ciemne oraz zaznaczenie sakkad, tj. linii powstałych w skutek ruchów gałki ocznej podczas wykonywania pomiaru [6, 8, 10]. Z przyczyn technicznych ocena przepływu w naczyniach o przekroju ponad  $30 \mu\text{m}$  jest obciążona poważnym błędem pomiarowym, dlatego naczynia te są automatycznie odszukiwane na obrazie i piksele, które je definiują, są wyłączone z analizy. Następnie możliwa jest ocena wielu parametrów, takich jak prędkość przepływu lub objętość krwi. Bardzo ciekawym i powtarzalnym parametrem jest WLR. Krążenie siatkówkowe cechuje się dużą zmiennością średnicy badanych naczyń, dlatego ocena bezwzględnych wartości grubości ściany czy też pola powierzchni światła byłaby trudna do porównywania, ponieważ wartości te istotnie zależą od średnicy naczynia. Współczynnik ten pozwala na standaryzację pomiaru, eliminując różnice wynikające ze średnicy naczynia, co jest także związane z różnymi odległościami miejsca pomiaru od tarczy nerwu wzrokowego [6, 8–10]. Należy podkreślić, że choć metodę stosuje się od ponad 20 lat, to cały czas się ona rozwija, co pozwala rozszerzać

gamę uzyskanych parametrów pomiarowych, chociażby o określenie średniej odległości punktu na dnie oka od najbliższego naczynia. Pozwala to w przybliżeniu określić gęstość utkania naczyń krwionośnych w mikrokrążeniu konkretnego pacjenta, a co za tym idzie — opór naczyniowy [11].

Skaningową laserową przepływowmetrię dopplerowską można wykorzystywać w celu oceny ryzyka powikłań narządowych takich chorób, jak nadciśnienie tętnicze czy cukrzyca. W wielu badaniach potwierdzono, że WLR jest istotnie wyższy u pacjentów, u których kontrola ciśnienia tętniczego pozostaje nieodpowiednia w porównaniu z osobami z prawidłowo kontrolowanym ciśnieniem tętniczym lub zdrowych [12]. Jeszcze wyższe wartości WLR stwierdzono na przykład u pacjentów, którzy przeżyli udar mózgu [9]. Także u osób obciążonych cukrzycą wartości tego parametru są podwyższone w porównaniu z odpowiadającymi im wartościami u osób z prawidłową glikemią [13].

### Laserowa dopplerowska przepływowmetria dwukierunkowa

Laserowa dopplerowska przepływowmetria dwukierunkowa (BLDV, *bidirectional laser doppler velocimetry*) jest kolejną metodą służącą ocenie przepływu w okolicy naczyń tętniczych i żyłkach siatkówki z zastosowaniem efektu Dopplera [14]. Metoda ta polega na całkowitej ocenie prędkości przepływu erytrocytów w siatkówce (ang. *total retinal perfusion*). Spektra światła lasera rozproszonego przez erytrocyty uzyskuje się w odniesieniu do obu kierunków rozproszonego światła. Częstotliwość odcięcia dla każdego spektrum jest powiązana z prędkością maksymalną erytrocytów [15]. Profil paraboliczny prędkości przepływu oblicza się, dzieląc prędkość maksymalną przez 2. Średnią prędkość erytrocytów natomiast uzyskuje się w czasie cyklu pracy serca poprzez scalenie średnich prędkości przepływu. Profil prędkości erytrocytów nie różni się istotnie od kształtu parabolicznego zarówno podczas skurczu, jak i rozkurczu. Wraz ze zmniejszeniem średnicy naczyń pojawiają się jednak różnice względem profilu parabolicznego, które wymagają odpowiedniej korekty. W porównaniu z innymi metodami, którymi ocenia się prędkość przepływu erytrocytów w tętnicach siatkówki, wartości uzyskiwane za pomocą BLDV są podobne, choć przepływ krwi wyliczany tą metodą jest większy w części skroniowej niż w części nosowej [14]. Metoda ta wykazuje wysoką powtarzalność oraz daje możliwość porównywania przepływu krwi w różnych

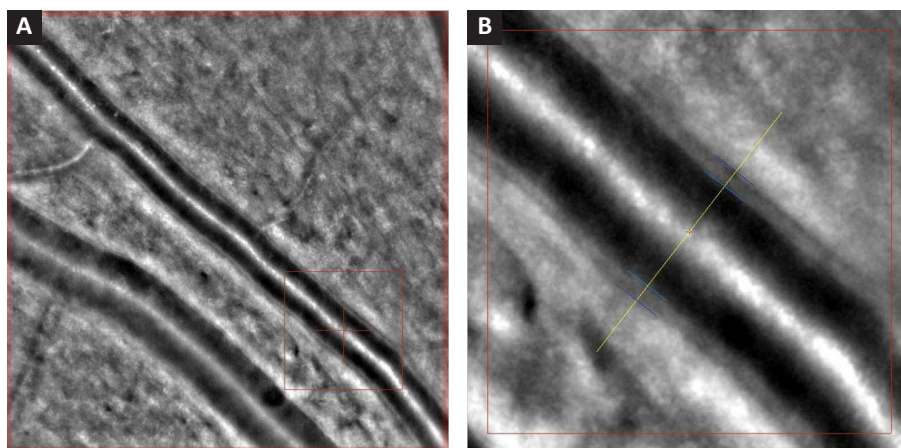
naczyniach tego samego oka, a także między badanymi pacjentami. Niestety, pomiary *total retinal perfusion* nie odbywają się jednocześnie [16].

### DWUWIĄZKOWA DOPLEROWSKA OPTYCZNA TOMOGRAFIA KOHERENTNA

Bardzo ciekawym narzędziem diagnostycznym jest opracowany niedawno system dwuwiązkowego doplera połączonego z optyczną tomografią koherentną (OCT, *optical coherence tomography*). Optyczna tomografia koherentna umożliwia obrazowanie i ocenę warstw siatkówki. Dołączenie jej do wspomnianej wyżej metody pozwoliło na jednoczasową ocenę prędkości i przepływu krwi w naczyniach siatkówki. Wyniki uzyskuje się na podstawie zmiany odczytu dopplerowskiego spowodowanego ruchem komórek krwi w kierunku światła. Na podstawie wyników pomiaru, znając długość fali światła, wskaźnik refrakcji i kąt Dopplera, można obliczyć całkowitą prędkość. Pewnym problem okazuje się określenie kąta Dopplera w związku z występowaniem licznych artefaktów ruchowych. Rozwiązaniem jest zastosowanie dwóch niezależnych pomiarów tego samego naczynia, ale w określonej odległości od siebie [17, 18]. Pewną modyfikacją powyższej metody jest *dual-beam Doppler Fourier-domain OC*, w której wykorzystuje się światło o długości fali 839 nm do oceny prędkości krwi, a pomiar wewnętrznej średnicy naczyń umożliwia ocenę przepływu. Następnie, w celu oceny całkowitego przepływu siatkówkowego, sumuje się pomiary we wszystkich odgałęzieniach naczyń. Pewnym utrudnieniem tej metody jest fakt, że pomiary muszą być dokonane osobno kolejno w każdym naczyniu, a dopiero po uzyskaniu wszystkich pomiarów możliwe jest obliczenie całkowitego przepływu. Metoda ta wydaje się przydatna do oceny wczesnych zaburzeń oka o podłożu naczyniowym, takich jak na przykład retinopatia cukrzycowa lub jaskra. Ponieważ jest to stosunkowo nowy system oceny prędkości i objętości krwi, to konieczne są dalsze badania dotyczące mikrokrążenia siatkówkowego w celu określenia jego miejsca w diagnostyce naczyniowej [6, 18].

### ADAPTIVE OPTICS

Ostatnio zastosowana technologia *adaptive optics* sama w sobie nie jest metodą obrazowania mikrokrążenia siatkówkowego. Polega na obrazowaniu siatkówki oka w świetle laserowym, a następnie korekcji uzyskanego obrazu techniką optyki adaptacyjnej, co umożliwia usunięcie aberracji optycznych [5, 19]. Metodę tę pierwotnie



**Rycina 2A,B.** Pomiar *wall-to-lumen-ratio* tętniczki siatkówki oka metodą optyki adaptatywnej

stosowano w astronomii w celu wyostrenia zniekształconych przez atmosferę obrazów uzyskiwanych z teleskopów naziemnych [6, 20]. Wykorzystanie jej w okulistyce zwiększyło możliwość uzyskiwania zdjęć dna oka o bardzo wysokiej rozdzielczości 1 piksela ( $< 1 \mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$ ) oraz rozwoju znacznie dokładniejszych pomiarów takimi technikami, jak na przykład OCT [6, 19]. Wykorzystanie tej metody umożliwia ocenę morfologii fotoreceptorów widzenia barwnego (czopków), ocenę morfologii naczyń siatkówki — szczególnie WLR, który pozwala na ocenę remodelingu naczyniowego w chorobie nadciśnieniowej [6] (ryc. 2).

## PODSUMOWANIE

W ostatnich 30 latach techniki oceny mikrokrążenia siatkówkowego przeszły prawdziwą rewolucję. Wcześniej możliwe było jedynie stwierdzenie znaczących zmian morfologicznych w budowie naczyń siatkówki, obecnie zaś jest możliwa dokładna ocena wszystkich elementów budowy naczynia, a także funkcji naczyń i przepływu w nich krwi — elementów, które wcześniej nie były dostępne w badaniu. Opracowano wiele nieinwazyjnych technik oceny mikrokrążenia; niektóre z nich są stosowane wyłącznie w modelach doświadczalnych, inne, jak na przykład SLDF lub OCT, wykorzystuje się w praktyce klinicznej, co pomaga nie tylko w diagnozowaniu chorób oczu, ale także w ocenie powikłań narządowych w układzie sercowo-naczyniowym. W związku z małym kalibrem naczyń mikrokrążenia siatkówkowego zmiany patologiczne zachodzą w nich bardzo szybko, a możliwość ich szybkiego stwierdzenia umożliwia określenie grupy pacjentów, u których w niedługim czasie wystąpią powikłania narządowe, na przykład w przebiegu cukrzycy lub nadciśnienia

tętniczego. Pewien problem stanowi jedynie niewielkie rozpowszechnienie powyższych metod oraz ich stosowanie głównie w wysoko wyspecjalizowanych ośrodkach, ale w związku z rozwojem tych technik i upraszczaniem niektórych procedur wydaje się, że w najbliższym czasie ich zastosowanie kliniczne będzie się zwiększać.

## PIŚMIENICTWO

- Mimoun L, Massin P, Steg G. Retinal microvascularisation abnormalities and cardiovascular risk. *Arch Cardiovasc Dis.* 2009; 102(5): 449–456, doi: [10.1016/j.acvd.2009.02.008](https://doi.org/10.1016/j.acvd.2009.02.008), indexed in Pubmed: [19520331](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19520331/).
- Ritt M, Harazny JM, Ott C, et al. Analysis of retinal arteriolar structure in never-treated patients with essential hypertension. *J Hypertens.* 2008; 26(7): 1427–1434, doi: [10.1097/HJH.0b013e32822fcdc66](https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e32822fcdc66), indexed in Pubmed: [18551020](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18551020/).
- Pearce JMS. The ophthalmoscope: Helmholtz's Augenspiegel. *Eur Neurol.* 2009; 61(4): 244–249, doi: [10.1159/000198418](https://doi.org/10.1159/000198418), indexed in Pubmed: [19182487](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19182487/).
- Zalewska-Żmijewska A, Szaflik J. Badanie dna oka w nadciśnieniu tętniczym. In: Januszewicz A. ed. *Nadciśnienie tętnicze Współczesna diagnostyka i podstawy terapii.* Medycyna Praktyczna, Kraków 2014: 55–63.
- Limjeerajarus C. Laser Doppler flowmetry: basic principle, current clinical and research applications in dentistry. *CU Dent J.* 2014; 37: 123–136.
- Harazna J. Badania oceniające budowę i funkcję drobnych tętniczek. In: Januszewicz A. ed. *Nadciśnienie tętnicze Współczesna diagnostyka i podstawy terapii.* Medycyna Praktyczna, Kraków 2014: 110–120.
- Fredriksson I, Fors C, Johansson J. Laser Doppler flowmetry — a theoretical framework, Department of Biomedical Engineering, Linköping University. [www.imt.liu.se/bit/ldf/ldfmain.html](http://www.imt.liu.se/bit/ldf/ldfmain.html) (8.10.2007).
- Michelson G, Welzenbach J, Pal I, et al. Automatic full field analysis of perfusion images gained by scanning laser Doppler flowmetry. *Br J Ophthalmol.* 1998; 82(11): 1294–1300, doi: [10.1136/bjo.82.11.1294](https://doi.org/10.1136/bjo.82.11.1294), indexed in Pubmed: [9924336](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9924336/).
- Harazny JM, Ritt M, Baleanu D, et al. Increased wall:lumen ratio of retinal arterioles in male patients with a history of a cerebrovascular event. *Hypertension.* 2007; 50(4): 623–629, doi: [10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.090779](https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.090779), indexed in Pubmed: [17698722](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17698722/).
- Harazny JM, Raff U, Welzenbach J, et al. New software analyses increase the reliability of measurements of retinal arterioles morphology by scanning laser Doppler flowmetry in humans. *J Hypertens.* 2011;

- 29(4): 777–782, doi: [10.1097/HJH.0b013e328343c27a](https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e328343c27a), indexed in Pubmed: [21297501](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21297501/).
11. Jumar A, Harazny J, Ott C, et al. Retinal capillary rarefaction in patients with type 2 diabetes mellitus. *PLoS One*. 2016; 11(12): e0162608, doi: [10.1371/journal.pone.0162608](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162608), indexed in Pubmed: [27935938](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27935938/).
  12. Ritt M, Harazny JM, Ott C, et al. Analysis of retinal arteriolar structure in never-treated patients with essential hypertension. *J Hypertens*. 2008; 26(7): 1427–1434, doi: [10.1097/HJH.0b013e3282ffdc66](https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e3282ffdc66), indexed in Pubmed: [18551020](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18551020/).
  13. Cuypers MH, Kasanardjo JS, Polak BC. Retinal blood flow changes in diabetic retinopathy measured with the Heidelberg scanning laser Doppler flowmeter. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2000; 38(12): 935–941, doi: [10.1007/s004170000207](https://doi.org/10.1007/s004170000207), indexed in Pubmed: [11196354](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11196354/).
  14. Pournaras CJ, Riva CE. Retinal blood flow evaluation. *Ophthalmologica*. 2013; 229(2): 61–74, doi: [10.1159/000338186](https://doi.org/10.1159/000338186), indexed in Pubmed: [23257770](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23257770/).
  15. Riva CE, Feke GT, Eberli B, et al. Bidirectional LDV system for absolute measurement of blood speed in retinal vessels. *Appl Opt*. 1979; 18(13): 2301–2306, doi: [10.1364/ao.18.002301](https://doi.org/10.1364/ao.18.002301), indexed in Pubmed: [20212650](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20212650/).
  16. Yoshida A, Feke GT, Mori F, et al. Reproducibility and clinical application of a newly developed stabilized retinal laser Doppler instrument. *Am J Ophthalmol*. 2003; 135(3): 356–361, doi: [10.1016/s0002-9394\(02\)01949-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9394(02)01949-9), indexed in Pubmed: [12614754](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12614754/).
  17. Werkmeister RM, Dragostinoff N, Pircher M, et al. Bidirectional Doppler Fourier-domain optical coherence tomography for measurement of absolute flow velocities in human retinal vessels. *Opt Lett*. 2008; 33(24): 2967–2969, doi: [10.1364/ol.33.002967](https://doi.org/10.1364/ol.33.002967), indexed in Pubmed: [19079508](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19079508/).
  18. Werkmeister RM, Dragostinoff N, Palkovits S, et al. Measurement of absolute blood flow velocity and blood flow in the human retina by dual-beam bidirectional Doppler fourier-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012; 53(10): 6062–6071, doi: [10.1167/iovs.12-9514](https://doi.org/10.1167/iovs.12-9514), indexed in Pubmed: [22893675](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22893675/).
  19. Morgan JIW. The fundus photo has met its match: optical coherence tomography and adaptive optics ophthalmoscopy are here to stay. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2016; 36(3): 218–239, doi: [10.1111/opo.12289](https://doi.org/10.1111/opo.12289), indexed in Pubmed: [27112222](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27112222/).
  20. Jian Y, Lee S, Ju MJ, et al. Lens-based wavefront sensorless adaptive optics swept source OCT. *Sci Rep*. 2016; 6: 27620, doi: [10.1038/srep27620](https://doi.org/10.1038/srep27620), indexed in Pubmed: [27278853](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27278853/).