

Развитие голографии сетчатки человеческого глаза

С. Захаровас^{1,2}, М. Сухеймат¹, Д. А. Атчисон¹, Э. Д. Ламберт³

¹ Квинслендский Технологический Университет, Брисбен, Австралия

² Университет Де Монфорт, Лестер, Великобритания

³ Университет Нового Южного Уэллса, Канберра, Австралия

В прошлом году мы представили цифровой голографический микроскоп для визуализации сетчатки живого человеческого глаза. В этом микроскопе мы реализовали принципы работы внеосевого цифрового голографического микроскопа, предназначенного для исследования отражающих микрообъектов. В нашей схеме оптическая система исследуемого глаза образует объектив микроскопа. В этой статье мы представим методику калибровки и определения характеристик такого голографического микроскопа и представим последние результаты голографирования сетчатки человеческого глаза.

Ключевые слова: цифровая голография, голографический микроскоп, сетчатка глаза, роговица, хрусталик глаза, изображение сетчатки глаза.

Цитирование: Захаровас, С. Развитие голографии сетчатки человеческого глаза /

С. Захаровас, М. Сухеймат, Д. А. Атчисон, Э. Д. Ламберт // НОЛОEXPO 2021 :

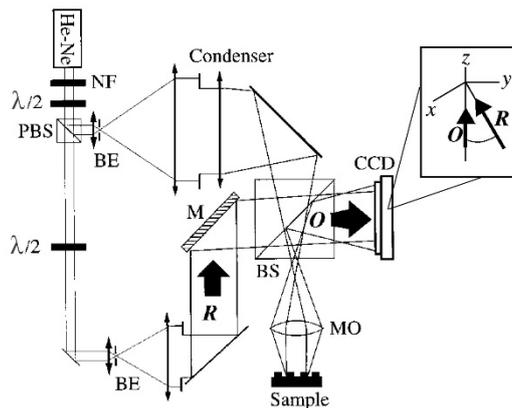
XVIII Международная конференция по голографии и прикладным оптическим технологиям :

Тезисы докладов. — М. : МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2021. — С. 135–148.

Введение

Исследование зрения человека и диагностика глазных патологий в значительной степени зависят от возможности визуализации человеческого глаза. Существует несколько методов визуализации, различающихся по полю зрения, разрешению, контрастности и части глаза, которая подвергается отображению [1]. Методы визуализации сетчатки, такие как фундус-камеры [2], сканирующая лазерная офтальмоскопия [3] и оптическая когерентная томография [4], могут быть объединены с адаптивной оптикой для получения изображений более высокого разрешения. Однако все известные методы визуализации глаза не могут обеспечить изображения с разрешением менее 1 мкм и глубиной в несколько сотен микрометров. Более того, все вышеперечисленные методы визуализации сетчатки основаны на сложном и дорогом оборудовании, поэтому необходимы более экономичные решения, позволяющие исследовать внутренние структуры человеческого глаза с таким же или лучшим разрешением и на большей глубине.

В [5] была описана аналоговая голографическая установка, примененная для записи голограмм сетчатки человеческого глаза на фотопластинку с разрешением деталей изображения порядка ≈ 20 мкм. В последнее время для визуализации сетчатки начали применяться методы цифровой голографии. Широкополосная лазерная доплеровская голография была применена для исследования сетчаточного кровотока, выявив пульсацию сетчаточного кровотока в человеческом глазу с временным разрешением 1,6 мс [5–8]. Объемное изображение сетчатки глаза *in-vivo* без аберраций с помощью высокоскоростной CCD-камеры позволило достичь осевого разрешения около 10 мкм и поперечного разрешения 2,6 мкм [9].



NF — фильтр нейтральной плотности, PBS — поляризационный делитель пучка, BE — расширитель пучка с пинхолом, $\lambda/2$ — полуволновая пластина, M — зеркало, BS — делитель пучка, MO — объектив микроскопа, Condenser — конденсор, Sample — образец, O — объектный пучок, R — опорный пучок [13, рис. 1 и 2]

Рис. 1. Схема внеосевого голографического микроскопа для светоотражающих объектов

Мы для визуализации сетчатки использовали принцип работы внеосевого цифрового голографического микроскопа. В наших первых отчетах о результатах мы сообщали о возможности применения цифровой голографической микроскопии для исследования сетчатки человеческого глаза [10, 11]. Ниже мы представляем наши последние продвижения в этом направлении прикладных исследований.

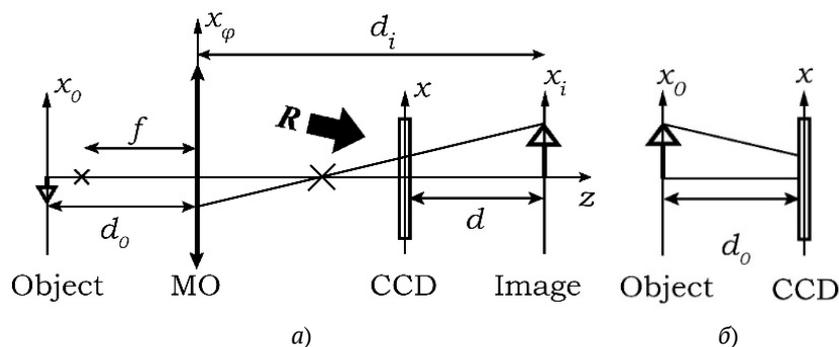
1. Внеосевой цифровой голографический микроскоп

Оптическая схема для голографической внеосевой микроскопии была предложена ван Лигтенем и Остербергом в 1966 году [12]. Куше и др. применили аналогичную схему для получения цифровых голографических изображений светопропускающих и светоотражающих образцов [13]; на рис. 1. показана их оптическая схема записи голограмм светоотражающего образца. Вставка на этом рисунке показывает, что объектный (O) и опорный (R) лучи приходят на ПЗС-матрицу (CCD) под углом друг к другу. Для освещения светоотражающего образца, в голографическом микроскопе используется линза с большим фокусным расстоянием (конденсор), которая вставляется между расширителем пучка лазерного излучения и объективом микроскопа (МО). Пара Конденсор-МО коллимирует лазерный луч, освещающий образец, уменьшает диаметр освещающего луча и концентрирует лазерный свет на участке образца в поле зрения объектива микроскопа. Зеркало M регулирует угол между объектным и опорным пучками.

Базовая архитектура такого цифрового голографического микроскопа представляет собой интерферометр Маха — Зендера. На ПЗС-матрице или датчике изображения интерференция между объектной волной O и опорной волной R создает интенсивность голограммы

$$I_H(x, y) = |R|^2 + |O|^2 + R^*O + RO^* \quad (1)$$

где R^* и O^* обозначают комплексные сопряжения опорной волны и волны объекта, соответственно. Объектная волна содержит пространственную и объемную информацию об образце.



f — фокусное расстояние объектива микроскопа; MO — объектив микроскопа; CCD — матрица цифровой камеры; R — опорный пучок, падающий на матрицу камеры под углом [13, рис. 3]

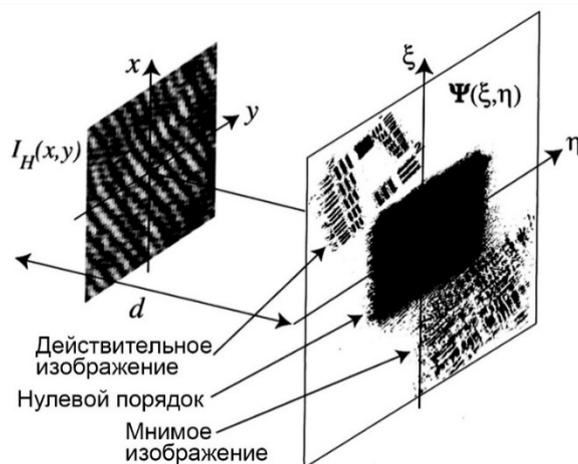
Рис. 2. Оптическая схема объектного плеча голографического микроскопа (а) и эквивалентная схема записи цифровой голограммы без оптики, увеличивающая изображение объекта (б)

Оптическая схема объектного плеча голографического микроскопа [13] представляет собой однолинзовую систему формирования изображения (рис. 2).

Объектив микроскопа (МО) создает увеличенное изображение объекта, а плоскость голограммы Ox (которая соответствует плоскости матрицы цифровой камеры) расположена между объективом микроскопа и увеличенным изображением объекта на плоскости Ox_i , и находится от него на расстоянии d . Это эквивалентно голографической конфигурации без увеличительной оптики с объектной волной, возникающей непосредственно от увеличенного изображения, а не от самого объекта — как если бы объект большего размера находился на расстоянии d_o от матрицы цифровой камеры рис. 2б. При добавлении опорного пучка на матрице камеры будет сформирована интерференционная картина (голограмма), которая впоследствии сохраняется в памяти компьютера.

Для численного восстановления голограмм, записанных таким образом, вычисляется дифракция Френеля для положения, близкого к сопряженному с положением образца в записывающей оптической системе. На рис. 3. показана геометрия восстановления записанной голограммы. Результатом расчета дифракционной картины является массив комплексных чисел, называемый восстановленным волновым фронтом Ψ , который представляет собой комплексную амплитуду оптического поля в плоскости наблюдения $O\zeta\eta$. Каждое комплексное число в этом массиве представляет амплитуду и фазу волнового фронта в каждой точке плоскости наблюдения и может быть визуализировано на мониторе компьютера.

Расстояние между плоскостью голограммы Ox и плоскостью наблюдения определяется расстоянием восстановления d . Когда голограмма записывается без МО, d должно быть равно или близко к длине оптического пути между объектом и ПЗС (d_o на рис. 2б). При наличии МО сфокусированное изображение объекта получается, когда расстояние реконструкции d равно расстоянию между ПЗС и изображением объекта во время записи голограммы (d на рис. 2а). Изменяя это расстояние, можно фокусировать восстановленное изображение образца в разных осевых плоскостях.



Oxy — плоскость голограммы, $O\xi\eta$ — плоскость наблюдения, d — расстояние восстановления, $\Psi(\xi, \eta)$ — восстановленный волновой фронт [13, рис. 4]

Рис. 3. Геометрия восстановления голограммы (освещение голограммы плоской волной происходит слева)

В классической голографии восстановление изображения осуществляется путем освещения голограммы опорной волной, а восстановленный волновой фронт определяется следующим образом.

$$\Psi = \mathbf{R}I_H = \mathbf{R}|\mathbf{R}|^2 + \mathbf{R}|\mathbf{O}|^2 + |\mathbf{R}|^2\mathbf{O} + \mathbf{R}^2|\mathbf{O}| \quad (2)$$

Два первых члена правой части уравнения (2) дают нулевой порядок дифракции, третий член дает мнимое изображение, а четвертый член — действительное изображение. В геометрии записи внеосевой голограммы эти различные члены восстанавливаются в разных местах плоскости наблюдения (рис. 3). Чем ближе объект к фокальной плоскости МО, тем ближе все три восстановленных изображения будут друг к другу. Если объект расположен слишком близко к фокальной плоскости МО, то восстановленные изображения невозможно отличить друг от друга.

Когда объект находится в фокальной плоскости объектива, расстояние между изображением объекта и объективом микроскопа бесконечно, голограмма записывается с помощью преобразования Фурье поля объекта, и реконструкция может быть выполнена простым вычислением преобразования Фурье голограммы [13]. Однако, поскольку для человеческих глаз это обычно не всегда так, для восстановления голограмм мы использовали расчет дифракционной модели Френеля.

Прежде чем рассказать о том, как мы применили внеосевую цифровую голографическую микроскопию для визуализации сетчатки, необходимо кратко описать оптическую систему человеческого глаза.

2. Оптическая система человеческого глаза

Человеческий глаз содержит многоповерхностную оптическую систему, позволяющую нам полноценно воспринимать внешние объекты. Свет от внешних объектов проходит через ме-

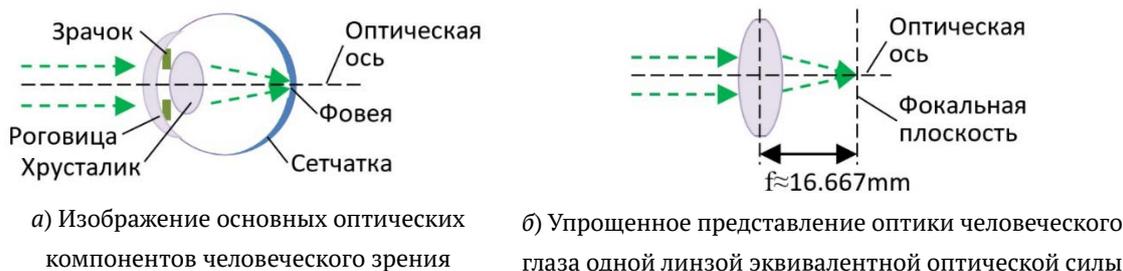
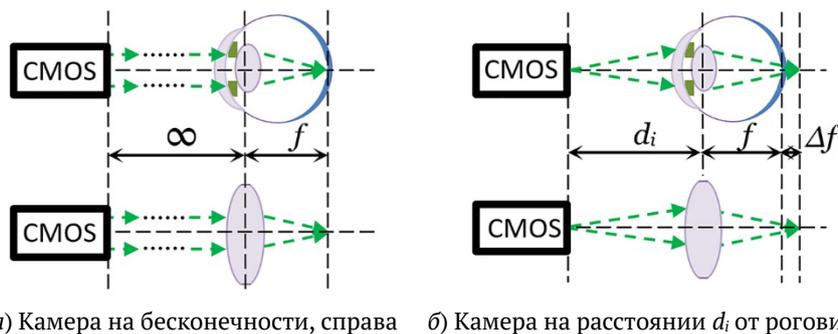


Рис. 4. Оптическая система человеческого глаза



CMOS — цифровая камера, f — положение фокальной плоскости, Δf — смещение фокальной плоскости

Рис. 5. Положение фокальной плоскости системы «камера-глаз» (в верхнем ряду показан глаз, в нижнем — оптика глаза, смоделированная одной линзой)

нисковую линзу, называемую роговицей, за которой находится отверстие, именуемое зрачком, а затем свет проходит через хрусталик. Эта оптическая система фокусирует изображения предметов на светочувствительной поверхности, называемой сетчаткой. Четкость центрального зрения зависит от четкости изображения, сфокусированного на области сетчатки, называемой фoveей или центральной ямкой. Схематично оптическую систему глаза можно представить так, как показано на рис. 4а. В оптометрии упрощённая модель глаза содержит одну линзу, фокусное расстояние которой обычно принимается равным 16,667 мм (рис. 4б).

Состояние глаза, когда сетчатка находится в фокальной плоскости оптической системы глаза, называется эметропией. Состояние, когда сетчатка находится позади фокальной плоскости, называется близорукостью и компенсируется ношением линз отрицательной оптической силы (рассеивающие линзы). Состояние, когда сетчатка находится перед фокальной плоскостью, называется дальнозоркостью и компенсируется ношением линз положительной оптической силы (собирающие линзы).

Если цифровая камера находится на оптической бесконечности и направлена на глаз, то для эметропного глаза фокальная плоскость такой оптической системы будет находиться на сетчатке и камера будет записывать изображение сетчатки (рис. 5а). Если же камера расположена ближе к глазу, фокальная плоскость оптической системы «камера-глаз» смещается на расстояния Δf за сетчатку (рис. 5б).

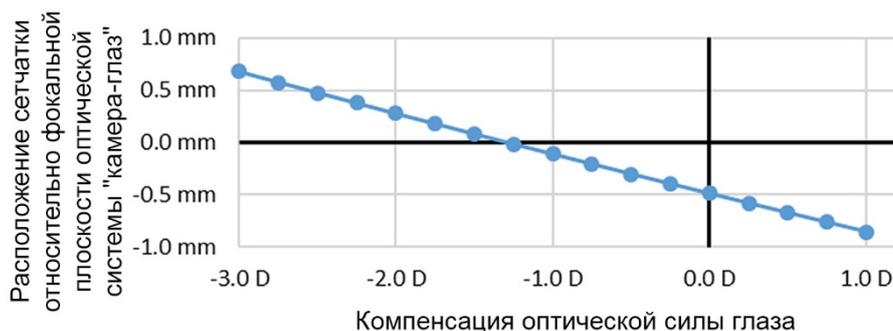


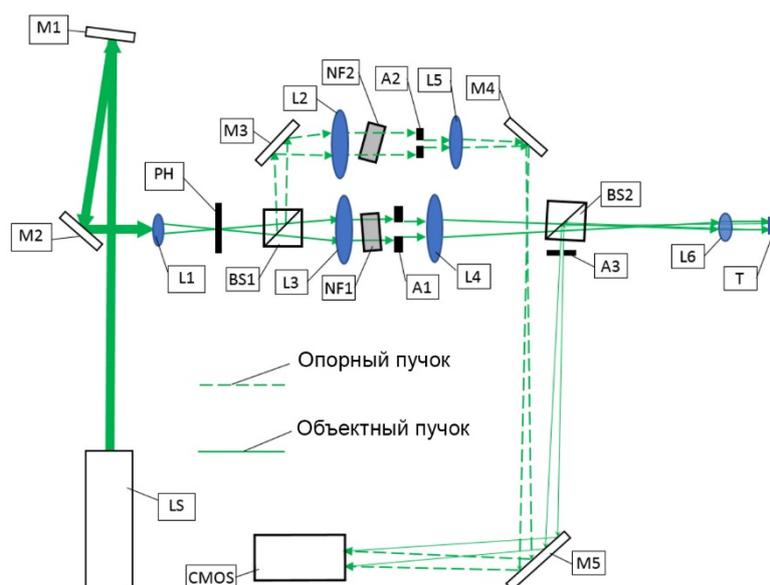
Рис. 6. Положение фокальной плоскости системы «камера-глаз», когда камера находится на расстоянии 775 мм от роговицы глаза

В близоруких и дальнозорких глазах сетчатка находится на определенных расстояниях от фокальной плоскости. Цифровые голограммы могут быть восстановлены численно на любых расстояниях. Чтобы определить расстояние восстановления, соответствующее положению сетчатки определенного глаза относительно фокальной плоскости оптической системы «камера-глаз», мы смоделировали ситуацию, показанную на рис. 5, для расстояния камеры от роговицы в нашей установке — 775 мм. Результаты этого моделирования представлены на рис. 6. Значения «компенсации оптической силы глаза» представляют собой оптическую силу линзы, предписываемую для близоруких и дальнозорких глаз (отрицательные и положительные значения, соответственно). Эти значения положения фокальной плоскости использовались нами для определения расстояний восстановления голограммы сетчатки.

3. Цифровой голографический микроскоп визуализации сетчатки глаза

В нашей установке оптика глаза действует как объектив микроскопа МО на рис. 1. Сама установка представлена на рис. 7. Для тестирования и калибровки установки, как модель человеческого глаза использовались линза L6 и мишень T; после калибровки глаз участника располагался так, чтобы расстояние от матрицы камеры до поверхность роговицы совпадало с расстоянием от матрицы камеры до поверхности линзы L6, обращенной к светоделительному кубу BS2, а главная оптическая ось роговицы совпадала с оптической осью линзы L6. Схема позиционирования глаза показана на рис. 8.

В голографическом микроскопе представленном на рис. 1. опорный пучок коллимирован, а объектный пучок расходящийся, что вызывает остаточные параболические фазовые искажения на записанной голограмме. Чтобы избежать этого, была предложено использование телецентрической оптика в объектном плече [14]. Однако, поскольку мы не хотели использовать на пути объектного луча никакую дополнительную оптику, кроме оптики человеческого глаза, мы обеспечили схожие углы расходимости опорного и объектного пучков. Это позволило получить равномерно контрастные интерференционные полосы, а также уменьшить угол между объектным и опорным пучками.

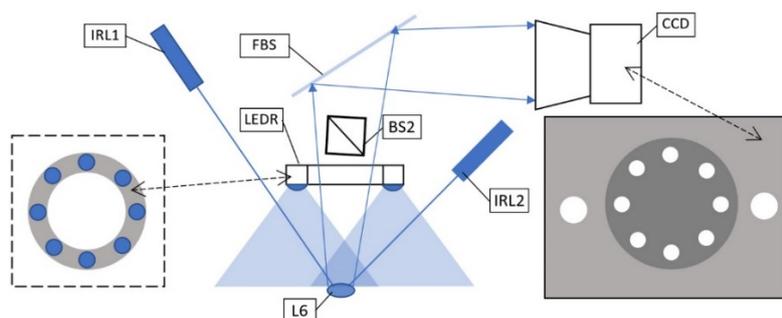


LS — лазер; M1–M5 — зеркала; L1 — фокусирующая линза пространственного фильтра; PH — пинхол; L2 и L3 — коллимирующие линзы пространственного фильтра; NF1 и NF2 — фильтры нейтральной плотности; BS1 и BS2 — неполяризующие светоделительные кубы; A1–A3 — диафрагмы; L4 — конденсор; L5 — линза, регулирующая расходимость опорного пучка; L6 — линза, имитирующая оптическую систему глаза, или живой глаз; T — мишень или живая сетчатка; CMOS — КМОП-камера

Рис. 7. Схема голографического микроскопа визуализации сетчатки

Излучение постоянного лазера LS с длиной волны 543,5 нм направляется зеркалами M1 и M2 на пространственный фильтр, состоящий из линзы L1 и точечной диафрагмы PH. Оно разделяется неполяризующим светоделителем BS1, и два пучка коллимируются отдельно линзами L2 и L3. Интенсивность каждого луча регулируется фильтрами нейтральной плотности NF1 и NF2. Апертуры A1 и A2 позволяют независимо регулировать диаметр каждого луча, а апертура A3 ограничивает обратное рассеяние роговицы в направлении M5. Линза L4 имеет фокусное расстояние 400 мм и действует как конденсор (на рис. 1. подобная линза обозначена как Condenser), поэтому лазерный луч, освещающий мишень T после роговицы и хрусталика глаза, коллимирован. На своем пути этот луч проходит разделитель луча BS2. Луч, отраженный от сетчатки или мишени и содержащий теперь информацию об образце (объектный луч), проходит линзу L6 или оптику человеческого глаза и отражается от делителя луча BS2 к зеркалу M5, которое в свою очередь направляет объектный луч к CMOS-камере. Опорный луч также направляется на КМОП-камеру зеркалами M4 и M5. Угол между опорным и объектным пучками задается, изменяя положения диафрагмы A2 и зеркала M4.

Позиционирование глаза производилось, наблюдая положение мест падения на роговицу двух пучков излучения инфракрасных (ИК) лазеров и отражения от сетчатки изображения кольца ИК светодиодов. Для фиксации положения участника в установке использовалась прикусная планка, перемещаемая при помощи трех-осевого прецизионного позиционера (на рис. 8 не показан). Предварительная калибровка системы позиционирования производилась, фиксируя изображение положения излучения ИК лазеров и светодиодов при наличии в установке линзы L6, а также стального шарика с кривизной равной кривизне роговицы глаза



IRL1 и IRL2 — инфракрасные лазеры; FBS — тонкопленочный светоделитель; CCD — цифровая камера с объективом; LEDR — кольцо инфракрасных светодиодов; BS2 — неполяризующий светоделитель, как на рис. 7; L6 — линза, имитирующая оптическую систему глаза, или живой глаз, как на рис. 7, или стальной шарик

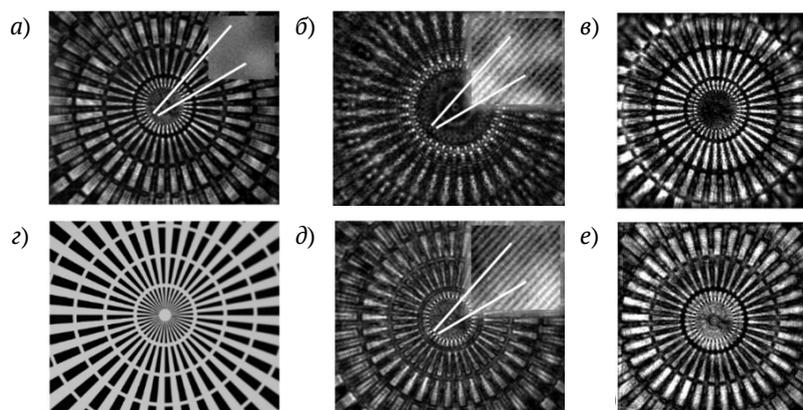
Рис. 8. Схема позиционирования глаза в голографическом микроскопе визуализации сетчатки. Вставка слева — кольцо светодиодов, вид спереди. Вставка справа — представление изображения на мониторе цифровой камеры, темный круг — изображение зрачка участника

участника. Лазеры IRL1, IRL2 и кольцо светодиодов LEDRB отключались во время экспозиции глаза лазером LS.

4. Калибровка цифрового голографического микроскопа визуализации сетчатки

В нашей установке линза L6 имеет фокусное расстояние 16,67 мм, что соответствует фокусному расстоянию оптической системы глаза в воздухе [15]. Для определения характеристик установки мы использовали тестовую мишень R1L1S1P от Thorlabs, содержащую звездообразный участок, состоящий из 36 равных лучей с угловым интервалом в 10° . В центре имеется прозрачное отверстие радиусом 10 мкм, а также 10 прозрачных концентрических окружностей с внутренней окружностью радиусом 50 мкм. На этой мишени мы также использовали секторную сетку с шагом 50 мкм.

Мишень располагалась в различных положениях относительно фокальной плоскости линзы L6 (см. вертикальную ось на рис. 6). Некоторые из изображений, полученных в процессе характеристики, показаны на рис. 9; для сравнения там же показано изображение звездообразной мишени, полученное при помощи микроскопа Olympus BX41 с объективом $\times 20/0,8$ NA UPlanApo с масляным погружением и цифровой камеры Nikon Ri1.



a — Мишень, сфокусированная на матрице камеры; *б* — Изображение мишени, полученное на микроскопе с объективом $20\times 0,8$ NA, погружая мишень в масло; *в* и *г* — Голограммы мишени и их восстановленные амплитуды; *д* — Мишень на расстоянии для -3 Дптр (близорукий глаз), расстояние восстановления $1,22$ м; *е* — Мишень на расстоянии для $-1,5$ Дптр (близорукий глаз), расстояние восстановления $0,175$ м

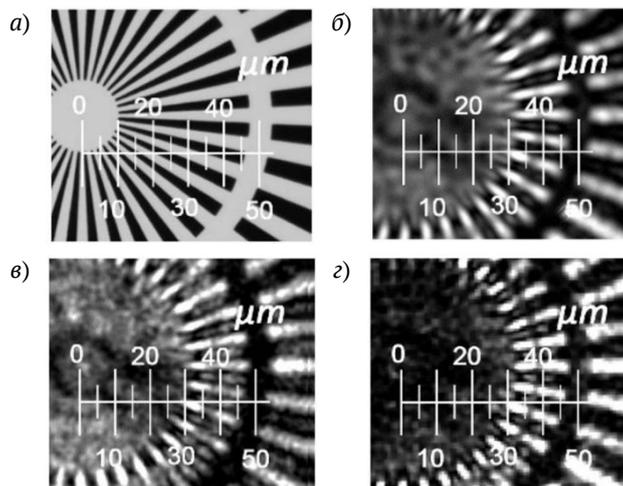
Рис. 9. Изображения звездообразной мишени, полученные при характеристике установки (вставки в изображения, показывают дифракционные полосы, записанные на каждой голограмме)

Мишень, которую мы использовали, представляет собой стеклянную подложку, покрытую хромом и протравленную таким образом, что большая часть мишени прозрачна и ее элементы поглощают свет, поэтому в обычном микроскопе лучи звездообразной мишени кажутся черными (рис. 9б и рис. 10а). В голографическом микроскопе хром отражает свет, поэтому те же элементы мишени выглядят белыми

Для численного восстановления голограммы мы использовали среду MATLAB и процедуры восстановления голограмм, аналогичные описанным в литературе [16, 17]. Также мы применили фильтрацию в пространстве Фурье для удаления нулевого порядка и мнимого изображения, как рекомендовано в работе Куше и др. [18].

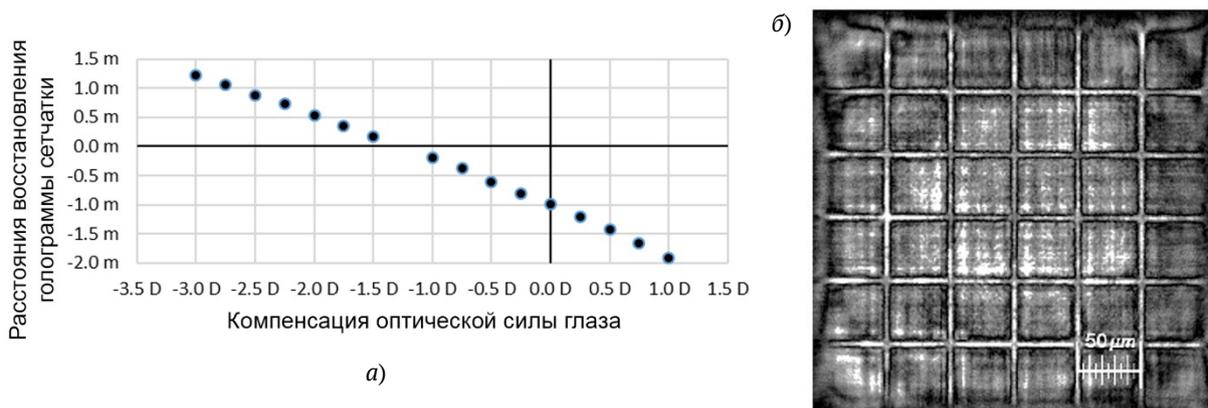
Разрешение нашей установки можно оценить, сравнив изображение звездообразной мишени, полученное в микроскопе с высокой числовой апертурой, с изображением, полученным в нашей системе (рис. 10). Утончающиеся звездные полосы исчезают в нашей системе на расстоянии ≈ 30 мкм от центра мишени; на этой окружности лежат 36 полос равной толщины, так что толщина пересечения полосы с окружностью (радиус 30 мкм) составляет 2,6 мкм. Если мы можем различать такие структуры, то можно утверждать, что разрешение нашего голографического микроскопа по крайней мере не хуже 1,3 мкм.

Расстояние восстановления цифровой голограммы, записанной в нашей установке, зависит от расстояния голографируемого объекта Δf от фокальной плоскости системы «камера-глаз». Поскольку нам известны расстояния сетчатки от фокальной плоскости системы «камера-глаз» для близоруких и дальнозорких глаз (рис. 6), помещая звездообразную мишень Т на соответствующих расстояниях от фокальной плоскости системы «камера-линза L6



а — Изображение звездной мишени, полученное с помощью микроскопа с объективом 40× 1,0 NA, при погружении мишени в масло; *б* — звездная мишень, сфокусированная на матрице камеры; *в* — восстановленная голограмма на расстоянии 0,175 м; *з* — восстановленная голограмма на расстоянии 1,22 м.

Рис. 10. Увеличенные изображения звездной мишени, полученные при характеристике установки



а — Зависимость расстояния восстановления голограммы сетчатки для различных компенсаций оптической силы глаза; *б* — Восстановленная амплитуда голограммы, записанной на расстоянии 537 мкм (−2,65 Дптр) от фокальной плоскости системы «камера-линза L6 (рис. 7.)»; восстановление выполнено на расстоянии 0,99 м

Рис. 11. Зависимость расстояния восстановления голограмм сетчатки от компенсации оптической силы глаза; пример восстановления голограмма мишени-сетки на установленном расстоянии

(рис. 7.)» были записаны голограммы мишени. Найдя оптимальные расстояния восстановления сфокусированного изображения звездообразной мишени для каждого положения мишени относительно плоскости фокусировки системы «камера-линза L6» мы определили оптимальные расстояния восстановления голограммы сетчатки для различного типа глаз.

Найденные расстояния восстановления сфокусированного изображения для различного типа глаз показаны на рис. 11*а*. Для установления масштаба реконструированного изображения для голограмм, записанных в нашей системе, удобно использовать голограммы секторной сетки с шагом 50 мкм. Это позволяет получить равномерный масштаб по всей площади

восстановленной голограммы, и геометрические искажения, если таковые имеются, легко идентифицируются. Следует отметить, что график приведенный на рис. 11 соответствует расстоянию между матрицей КМОП камеры и линзой L6 (рис. 7) равному 775 мм; при изменении этого расстояния необходима новая характеристика установки.

5. Запись и восстановление голограмм сетчатки глаза

После проведения определения характеристик установки линза L6 и мишень Т (рис. 7) были удалены, и глаз участника был позиционирован точно в положении линзы L6. У участника была миопия $-2,65$ Дптр, поэтому положение его сетчатки относительно фокальной плоскости оптики системы «камера-глаз» составляло ≈ 537 мкм (рис. 6). А1 была установлена на диаметр 13 мм, а А3 — примерно на 3 мм. Голограммы глаза были записаны при времени экспозиции 15 мс и мощности лазера 0,25 мВт, что значительно ниже порогов безопасного воздействия лазерного излучения используемой длиной волны на глаз, определенных Австралийскими стандартами безопасности [19], особенно с учетом того, что лазером освещается большая область сетчатки, чем специфицировано для такой дозы облучения в данном документе. Расширение зрачка глаза не использовалось, что отличается от обычной практики визуализации сетчатки другим оборудованием. В качестве КМОП-камеры мы использовали камеру Andor Zyla 5.5 USB 3.0 со следующими параметрами: размер матрицы — $16,6 \times 14,0$ мм; массив пикселей — 2560×2160 (Ш \times В); размер пикселя — $6,5 \times 6,5$ мкм; шум считывания (e^-) — 2,4.

Записанная голограмма представлена на рис. 12. Нефильтрованное амплитудное изображение восстановленной голограммы показано на рис. 13а. Для того чтобы оценить шум системы записи, мы также выполнили процедуру восстановления изображения голограммы, записанной при отсутствии глаза в системе (рис. 13б).

Восстановление амплитуды голограммы, в соответствии с параметрами системы, показанными на рис. 11а. для близорукости участника $-2,65$ Дптр, была выполнена на расстоянии 0,99 м от плоскости голограммы.

Поскольку сетчатка глаза участника находилась за фокальной плоскостью системы, действительное изображение располагается в левом верхнем углу восстановленной голограммы, как на рис. 3. Применение фильтра-окна Тьюки [18] значительно улучшило качество реконструкции голограммы (рис. 14.) за счет фильтрации мнимого изображения и изображения нулевого порядка. Колбочки сетчатки заметны на увеличенном изображении, несмотря на отсутствие расширения зрачка.

Для сравнения, на рис. 14. также показана структура фовеальных колбочек, полученная с помощью офтальмоскопии с адаптивной оптикой (AOSLO) [20]. Уже наши первые голографические изображения сетчатки были сравнимы с изображениями, полученными с помощью гораздо более сложных и хорошо развитых систем AOSLO, и получены за одну экспозицию и без сканирования глазного дна.

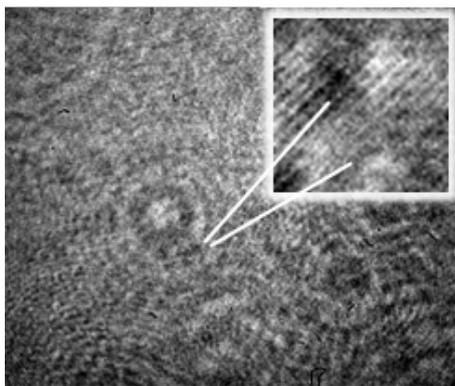
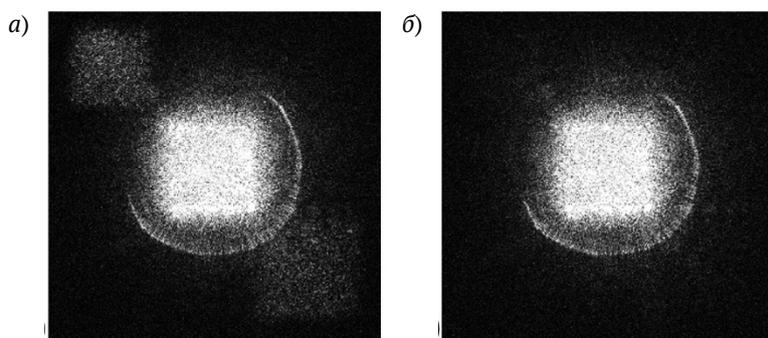


Рис. 12. Голограмма сетчатки живого глаза. На вставке — увеличенное изображение показывающее наличие интерференционных полос



a — Восстановление голограммы, показанной на рис. 11., без фильтров домена Фурье; *б* — Восстановление изображения, записанного при отсутствии глаза в системе

Рис. 13. Изображения восстановленных амплитуд голограмм

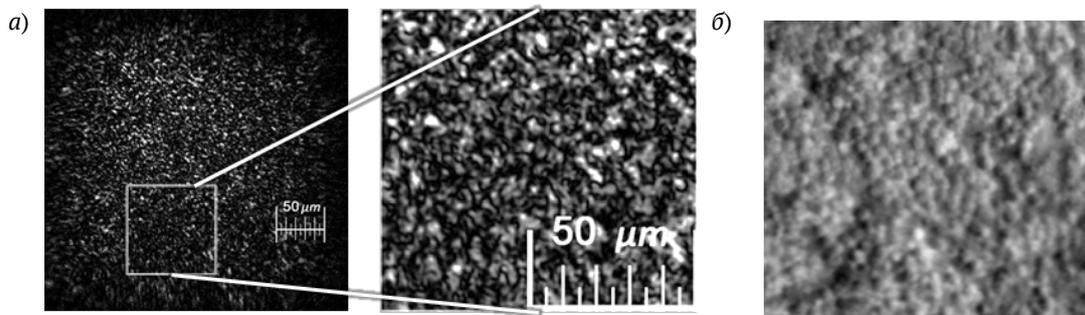
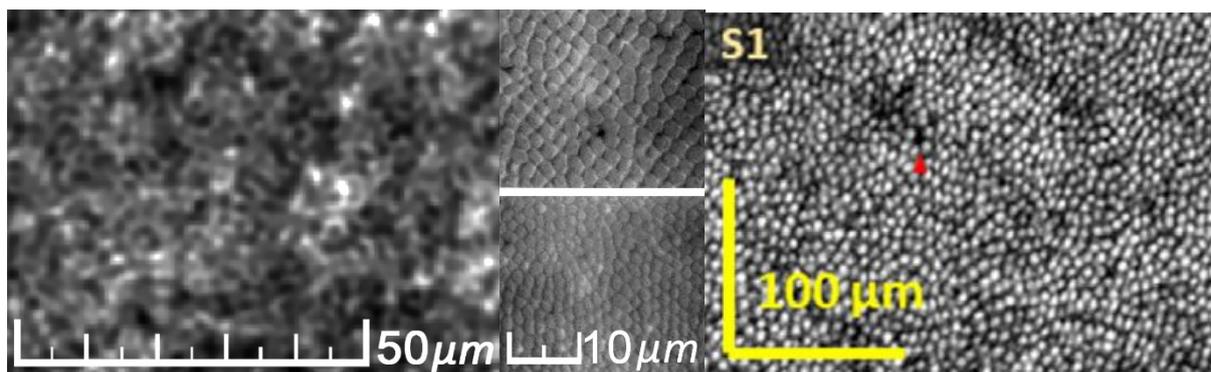


Рис. 14. Восстановление амплитуды цифровой голограммы сетчатки с фильтрацией изображения нулевого порядка и мнимого изображения (*a*) и изображения колбочек сетчатки, полученные с помощью сканирующей световой офтальмоскопии с адаптивной оптикой (*б*) [20, рис. 5]

Далее, лазер в установке был заменен на лазер с большей длиной когерентности — Cobalt Samba 04 (532 нм, 50 мВт), а камера помещена ближе к сетчатке глаза — на расстоянии 670 мм. Применяя вышеизложенные методики характеристики установки, записи и восстановления голограмм сетчатки, нами было получено изображение восстановленной голограммы сетчатки с различимыми гексагональными структурами. Изображения подобных структур были ранее получены при исследовании неживой ткани сетчатки человеческого глаза [21]. На



Слева — восстановленное голографическое изображение, полученное при помощи нынешней установки; посередине — микроскопическое изображение неживой сетчатки [21, рис. 2]; справа — изображение живой сетчатки, полученное на установке АО-ОСТ [22, рис. 5]

Рис. 15. Изображения слоя фоторецепторов человеческого глаза, полученные различными методами.

наших изображениях фоторецепторы выглядят как темные пятна, и их форма похожа на форму фоторецепторов на посмертных микроскопических изображениях сетчатки, в то время как системы оптической когерентной томографии с адаптивной оптикой (АО-ОСТ) показывают живые фоторецепторы как яркие точки. На рис. 15 показана одно из наших последних изображений сетчатки полученное из голограммы записанной и восстановленной по вышеприведенной методике; для сравнения там же приведены изображения неживой сетчатки и изображение живой сетчатки полученное на установке АО-ОСТ [22].

Заключение

Впервые методами внеосевой цифровой голографии были получены изображения гексагональной формы колбочек сетчатки живого глаза.

Благодарность

Исследование было поддержано грантом Australian Research Council Discovery Grant DP190103069.

Список источников

- [1] **Masters, B. R.** [Optical devices in Ophthalmology and Optometry: technology, design principles and clinical applications](#) / B. R. Masters // Journal of Biomedical Optics. — 2014. — Vol. 19. — № 7. — P. 079901.
- [2] **DeHoog, E.** [Fundus camera systems: a comparative analysis](#) / E. DeHoog and J. Schwiegerling // Applied Optics. — 2009. — Vol. 48. — № 2. — P. 221–228.
- [3] **Kotecha, A.** Ultrastructural Imaging / A. Kotecha, G. Roberti, F. Fitzke // Glaucoma (Second Edition). — 2015. — Vol. 1. — P. 666–673.
- [4] **Campbell, J. P.** [Detailed vascular anatomy of the human retina by projection-resolved optical coherence tomography angiography](#) / J. P. Campbell, M. Zhang, T. S. Hwang, S. T. Bailey, D. J. Wilson, Y. Jia, D. Huang // Scientific Reports. — 2017. — Vol. 7. — P. 42201.
- [5] **Tokuda, A. R.** [Holocamera for 3-D micrography of the alert human eye](#) / A. R. Tokuda, D. C. Auth, A. P. Bruckner // Applied Optics. — 1980. — Vol. 19. — № 13. — P. 2219–2225.

- [6] **Puyo, L.** [In vivo laser Doppler holography of the human retina](#) / L. Puyo, M. Paques, M. Fink, J.-A. Sabel, M. Atlan // Biomedical Optics Express. — 2018. — Vol. 9. — № 9. — P. 4113–4129.
- [7] **Puyo, L.** [Ultrafast digital holography for in vivo retinal blood flow imaging and assessment of flow resistance](#) / L. Puyo, M. Paques, M. Fink, J.-A. Sabel, M. Atlan // Digital Holography and Three-Dimensional Imaging 2019. — OSA Technical Digest, 2019 — P. Tv1A.2.
- [8] **Rivet, J.** [Motion compensation in digital holography for retinal imaging](#) / J. Rivet, G. Tochon, S. Meimon, M. Paques, T. Géraud, M. Atlan // IEEE 16th International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI 2019). — 2019. — P. 1428–1431.
- [9] **Hillmann, D.** [Aberration-free volumetric high-speed imaging of in vivo retina](#) / D. Hillmann, H. Spahr, C. Hain, H. Sudkamp, G. Franke, C. Pfäffle, C. Winter // Scientific Reports. — 2016 — Vol. 6. — P. 35209.
- [10] **Захаровас, С.** Цифровой голографический микроскоп для записи структур сетчатки глаза человека в живую / С. Захаровас, М. Сухеймат, Д. А. Атчисон, Э. Дж. Ламберт // HOLOEXPO 2020 : XVII международная конференция по голографии и прикладным оптическим технологиям: Тезисы докладов. — М. : МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2020. — С. 246–252.
- [11] **Zacharovas, S.** [Digital holographic microscope for human eye retinal structures recording in vivo](#) / S. Zacharovas, M. Suheimat, D. A. Atchison, A. J. Lambert // Applied Optics. — 2021. — Vol. 60. — № 4. — P. A173–A178.
- [12] **Van Ligten, R.** [Holographic Microscopy](#) / R. Van Ligten, H. Osterberg // Nature. — 1966. — Vol. 211. — P. 282–283.
- [13] **Cuche, E.** [Simultaneous amplitude-contrast and quantitative phase-contrast microscopy by numerical reconstruction of Fresnel off-axis holograms](#) / E. Cuche, P. Marquet, C. Depeursinge // Applied Optics. — 1999. — Vol. 38. — №. 34. — P. 6994–7001.
- [14] **Sánchez-Ortiga, E.** [Digital holographic microscopy with pure-optical spherical phase compensation](#) / E. Sánchez-Ortiga, P. Ferraro, M. Martínez-Corral, G. Saavedra, A. Doblaz // Journal of the Optical Society of America A. — 2011. — Vol. 28. — № 7. — P. 1410–1417.
- [15] **Atchison, D. A.** [Optics of the human eye](#) / D. A. Atchison and G. Smith. — Oxford : Butterworth-Heinemann, 2000. — P. 253–254.
- [16] **Seifi, M.** HoloRec3D: A free Matlab toolbox for digital holography / M. Seifi, C. Fournier, L. Denis. — 2012. — P. ffujm-00749137f.
- [17] **Latychevskaia, T.** Reconstruction of off-axis hologram / URL: <https://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/71477-reconstruction-of-off-axis-hologram>
- [18] **Cuche, E.** [Spatial filtering for zero-order and twin-image elimination in digital off-axis holography](#) / E. Cuche, P. Marquet, C. Depeursinge // Applied Optics. — 2000. — Vol. 39. — № 23. — P. 4070–4075.
- [19] **Standards Australia** / Standards New Zealand. Safety of laser products, AS/NZS IEC 60825.1:2014 / URL: <https://www.standards.org.au/standards-catalogue/sa-snz/publicsafety/sf-019/as-slash-nzs--iec--60825-dot-1-colon-2014>
- [20] **Langlo, C. S.** Repeatability and longitudinal assessment of foveal cone structure in Cngb3-associated achromatopsia / C. S. Langlo, L. R. Erker, M. Parker, E. J. Patterson, B. P. Higgins, P. Summerfelt, M. M. Razeen, F. T. Collison, G. A. Fishman, C. N. Kay, J. Zhang, R. G. Weleber, P. Yang, M. E. Pennesi, B. L. Lam, J. D. Chulay, A. Dubra, W. W. Hauswirth, D. J. Wilson, J. Carroll // Retina. — 2017. — Vol. 37. — P. 1956–1966.
- [21] **Curcio, C. A.** Human photoreceptor topography / C. A. Curcio, K. R. Sloan, R. E. Kalina, A. E. Hendrickson // The Journal of Comparative Neurology. — 1990. — Vol. 292. — P. 497–523.
- [22] **Zhang, F.** [Revealing how color vision phenotype and genotype manifest in individual cone cells](#) / F. Zhang, K. Kurokawa, M. T. Bernucci, H. W. Jung, A. Lassoued, J. A. Crowell, J. Neitz, M. Neitz, D. T. Miller // Investigative Ophthalmology & Visual Science February. — 2021. — Vol. 62. — № 2. — P. 1–15.