

Измерение показателя преломления биологических тканей головы с помощью ОКТ и многоволнового рефрактометра

© А.С. Шансхул¹, Е.Н. Лазарева^{1,3¶}, Ю.И. Сурков^{1,2}, И.А. Серебрякова^{1,2}, Д.К. Тучина^{1,2,3}, Э.А. Генина^{1,3}, В.В. Тучин^{1,2,3,4}

¹ Институт физики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

² Научный медицинский центр, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

³ Лаборатория лазерной молекулярной визуализации и машинного обучения, Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

⁴ Лаборатория проблем лазерной диагностики технических и живых систем, Институт проблем точной механики и управления, ФИЦ „Саратовский научный центр Российской академии наук“, Саратов, Россия

¶ e-mail: lazarevaen@list.ru

Поступила в редакцию 19.11.2024 г.

В окончательной редакции 29.11.2024 г.

Принята к публикации 07.04.2025 г.

Исследования и разработки в области лазерной биомедицинской диагностики и терапии определяют интерес к количественной оценке оптических свойств биологических тканей, в частности фазового и группового показателя преломления (ПП). Знание оптических дисперсионных зависимостей тканей головы в широком спектральном диапазоне необходимо для разработки неинвазивных методов диагностики и лечения заболеваний мозга. В связи с этим в работе проведены измерения ПП образцов тканей головы крысы (скальп, кость черепа, твердая мозговая оболочка, серое и белое вещество мозга) *ex vivo* в видимом/ближнем ИК диапазоне спектра с помощью оптической когерентной томографии (ОКТ) и многоволнового рефрактометра Аббе для ряда лазерных длин волн: 480, 486, 546, 589, 644, 656, 680, 800, 930, 1100, 1300 и 1550 nm. Проведено сравнение величин фазового ПП, измеренного с помощью рефрактометра и определенного по данным измерений дисперсии и группового ПП на центральной длине волны 930 nm системы ОКТ с полосой 100 nm. Полученные значения ПП достаточно хорошо согласуются с известными литературными данными.

Ключевые слова: показатель преломления, оптическая когерентная томография, многоволновой рефрактометр Аббе, биологические ткани головы, дисперсионные формулы.

DOI: 10.61011/OS.2025.05.60797.7028-24

1. Введение

Показатель преломления (ПП) биологической ткани является ключевым параметром для характеристики взаимодействия света с такой средой. Знание ПП биотканей играет важную роль во многих биомедицинских приложениях. В оптической диагностике злокачественные биоткани можно отличить от здоровых путем измерения и сравнения их ПП [1–3]. Оптическая когерентная томография (ОКТ) является перспективной технологией для измерения ПП слоистых сильно рассеивающих сред, в том числе биологических тканей *in vivo* [4–11]. ОКТ представляет собой интерференционный метод визуализации, позволяющий неинвазивно получать оптические изображения поперечного сечения образцов, несмотря на их сильное рассеяние. Двух- или трехмерные изображения образца можно реконструировать из многочисленных соседних сканов вглубь объекта — так называемых А-сканов. ОКТ широко используется для

визуализации в разнообразных биомедицинских исследованиях [4–11].

Известно несколько методов, которые успешно используются для измерения ПП в биологических тканях. Один из методов — метод Аббе — основан на использовании призмы полного внутреннего отражения для определения критического угла, по которому определяется ПП среды. В этом методе необходим непосредственный контакт образца с призмой, поэтому измеряется только ПП небольшого слоя, контактирующего с призмой [12–14]. Wang et al. [2] использовали фазово-контрастную микроскопию для количественного определения пространственных вариаций ПП тканей. Choi et al. [15] предложили метод количественного трехмерного (3D) картирования ПП в живых клетках и тканях с использованием фазосдвигающего лазерного интерферометрического микроскопа на основе интерферометра Маха–Цендера и многоуглового сканирования.

Этот метод требует сложных алгоритмов трехмерной реконструкции и может работать только для очень тонких срезов тканей. Для измерений ПП Oliveira et al. [16] использовали метод полного внутреннего отражения с оптической призмой и лазерами с разными длинами волн. Dirckx et al. [17] разработали метод, основанный на использовании конфокального микроскопа для измерения оптической толщины образца, определяемой по его ПП и геометрической толщине, аналогично ОКТ-измерениям.

Для успешного применения оптических методов диагностики и терапии во многих случаях требуются надежные знания ПП биологических тканей на многих длинах волн, что важно для понимания специфики дисперсии среды при распространении света, прогнозирования характеристик преломления и анализа дифракционных и интерференционных явлений в тканях [18–25]. К сожалению, в известной литературе отсутствует достаточно полная информация по ПП многих биологических тканей, в том числе и тканей головы. Большинство представленных результатов [1–35] либо получено для единичных длин волн, либо усреднены в широком диапазоне длин волн. Отсутствие данных во многом объясняется сложностью прямого измерения фазового ПП плотных сильно рассеивающих биологических тканей. Поскольку для расчета поглощения и рассеяния биологических тканей и моделирования распространения света необходимо знание именно фазового ПП, задача его оценки на основе измерения группового ПП представляется актуальной.

Биологические ткани животных во многом идентичны тканям человека по их структуре и оптическим свойствам, поэтому многие оптические методы диагностики и лечения тестируются на лабораторных животных, что делает необходимым знание оптических характеристик здоровых тканей животных, в частности дисперсионных зависимостей ПП. В настоящей работе представлены экспериментальные исследования группового ПП тканей головы лабораторных крыс, включая кожу скальпа, кость черепа, твердую мозговую оболочку, серое и белое вещество головного мозга с помощью ОКТ (930 nm) и фазового ПП серого вещества мозга с помощью многоволнового рефрактометра Аббе с представлением результатов в виде дисперсионных уравнений Зельмейера. Кроме получения новых данных для ПП тканей головы в видимой и инфракрасной областях спектра, целью настоящей работы также является демонстрация на примере серого вещества мозга возможности восстановления значения фазового ПП из ОКТ-измерений группового ПП на длине волны 930 nm с помощью дисперсионной зависимости вблизи этой длины волны, измеренной с помощью многоволнового рефрактометра. Полученные экспериментальные данные для ПП сопоставлены с известными литературными данными и между собой с использованием связи между фазовым и групповым ПП.

Таблица 1. Толщина исследуемых *ex vivo* образцов

Образцы ткани	Толщина, mm
Кожа скальпа	0.58 ± 0.17
Кость черепа	0.61 ± 0.19
ТМО	0.50 ± 0.15
Серое вещество	0.49 ± 0.18
Белое вещество	0.51 ± 0.19

2. Методы и материалы

2.1. Подготовка образцов

Исследуемые образцы биотканей были получены из вивария Центра коллективного пользования СГМУ им. В.И. Разумовского после декапитации здоровых белых крыс Wistar. Животные содержались в стандартных условиях вивария, все исследования на животных выполнялись в соответствии с Международными правилами биомедицинских исследований с использованием животных [36] и одобрены Комитетом по уходу и использованию лабораторных животных Саратовского национального исследовательского государственного университета (Протокол 7, 02.07.2018).

Для исследования *ex vivo* образцы тканей (кожа, кость черепа, твердая мозговая оболочка (ТМО), серое и белое вещество мозга) забирались вручную с помощью специального скальпеля (рис. 1).

Перед иссечением участки кожи были предварительно выбриты. Образцы кожи готовились из скальпов путем удаления жировой/мышечной прослойки с обратной стороны скальпа. Для исследований было приготовлено по 3 образца каждого типа ткани. Перед измерениями образцы погружали в физиологический раствор на 10 min для восстановления физиологического уровня гидратации. После этого исследуемые образцы фиксировали на предметных стеклах. Толщина *ex vivo* образцов измерялась электронным микрометром с точностью $\pm 1 \mu\text{m}$ в пяти различных точках и усреднялась по каждому образцу (табл. 1).

2.2. Экспериментальные установки

Измерения группового ПП проводились для всех образцов биотканей с использованием спектральной ОКТ-системы OCM0930SR 022 (Thorlabs, США), работающей на центральной длине волны 930 nm с полной шириной спектра суперлюминесцентного диода на половине высоты (FWHM), равной 100 nm, аксиальным разрешением $6.2 \mu\text{m}$ на воздухе и $4.4 \mu\text{m}$ в ткани, максимальной оптической глубиной зондирования 2.6 mm, частотой аксиального сканирования 1.2 kHz, поперечным разрешением $8 \mu\text{m}$ и чувствительностью 107 dB (рис. 2, а).

Измерения фазового ПП проводились на отдельных длинах волн с помощью многоволнового рефрактометра Аббе DR-M2/1550 (Atago, Япония) (рис. 2, б).

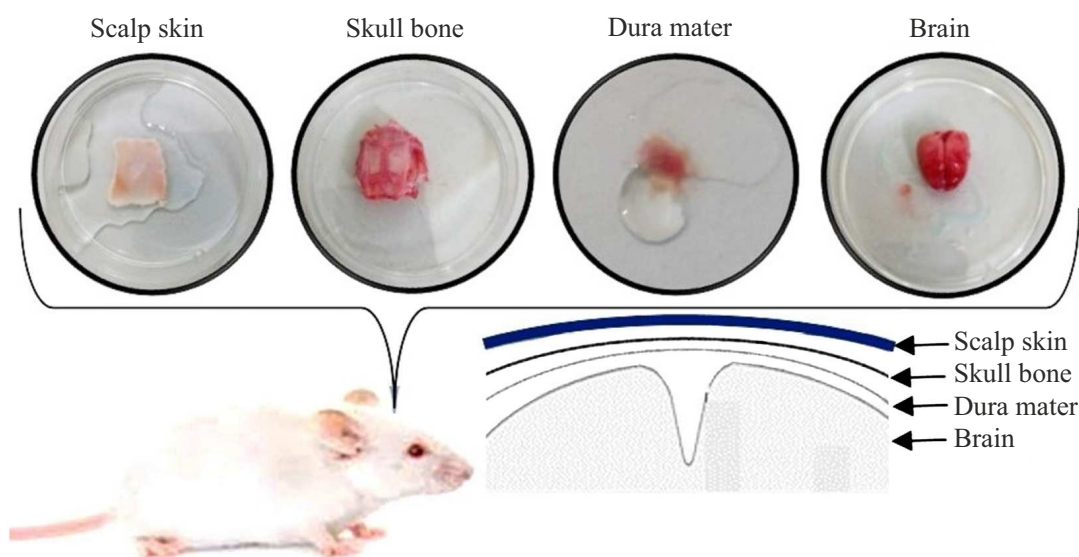


Рис. 1. Образцы тканей головы крысы.

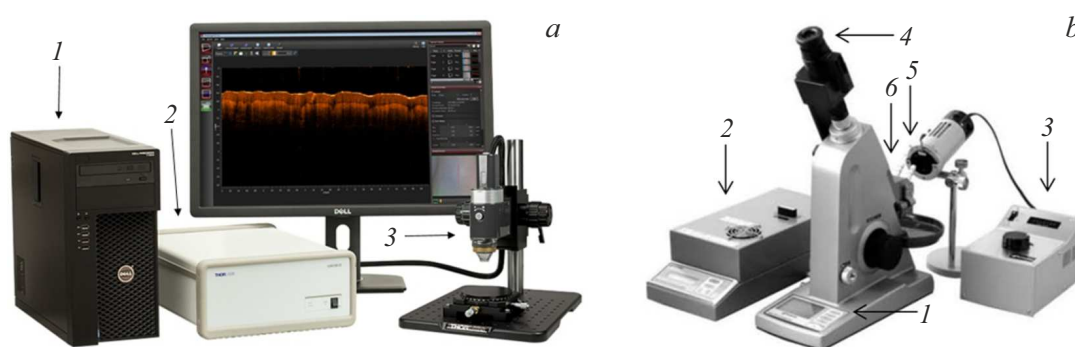


Рис. 2. Экспериментальные установки. (а) ОКТ-система (930 нм): 1 — компьютер с программным обеспечением, 2 — базовый блок ОКТ с источником света на основе суперлюминесцентного диода, 3 — ОКТ-зонд. (б) Многоволновой рефрактометр Аббе DR-M2/1550 (Atago, Япония): 1 — основной блок с призмой Аббе, 2 — источник питания, 3 — широкополосный источник света, 4 — визуализатор для измерений в ближней ИК области, 5 — интерференционный фильтр, 6 — образец.

В работе были использованы интерференционные фильтры 480 ± 2 , 486 ± 2 , 546 ± 2 , 589 ± 2 , 644 ± 2 , 656 ± 2 , 680 ± 5 , 800 ± 8 , 930 ± 6 , 1100 ± 26 , 1300 ± 25 , 1550 ± 25 nm и циркуляционный термостат для поддержания постоянной температуры основной измерительной призмы и образца ($+22^\circ\text{C}$). В начале каждой серии измерений осуществлялась калибровка рефрактометра путем измерения ПП дистиллированной воды на длине волны 589 nm. Средняя ошибка измерения ПП составляла 0.0002.

3. Результаты измерений

3.1. ОКТ измерения

В *ex vivo* измерениях использовали 3 крысы, было приготовлено по 3 образца каждого типа ткани, всего

15 образцов тканей головы крысы (кожа, ТМО, кость черепа, серое и белое вещество). Образцы имели размер примерно 15×20 mm, и их располагали на предметных стеклах для микропрепаратов СП-7101 (ООО „Мини-Лаб“, Россия), изготовленных из прозрачного бесцветного силикатного стекла. Толщина стекол примерно 1 mm. Ткани на предметных стеклах специальным образом не фиксировались, чтобы избежать влияния на их оптические свойства. Образец помещали в систему ОКТ таким образом, чтобы при сканировании вдоль поверхности образца можно было наблюдать как образец, так и область, в которой образец отсутствует. ПП ткани определяется по смещению изображения верхней поверхности предметного стекла под образцом [8,11,20,37–39]. Расстояние между изображениями двух точек, расположенных на одной линии вертикального сканирования (А-скане), на ОКТ-изображении равно оптической длине пути между

Таблица 2. Экспериментальные значения группового ПП n_g тканей головы крысы (SD — стандартное отклонение) в спектральном диапазоне 930 ± 50 nm

Ткань	Среднее	Стандартное отклонение
Кожа скальпа	1.429	0.006
Кость черепа	1.510	0.016
ТМО	1.424	0.020
Серое вещество	1.368	0.007
Белое вещество	1.379	0.007

этими двумя точками (l), определенной через средний групповой ПП среды на пути между этими точками (n_g) с помощью уравнения

$$l = n_g d_s,$$

(1)

где d_s — геометрическое расстояние между двумя точками, измеряемое между линией, проведенной через верхнюю точку образца параллельно подложке, на которой лежит образец, и линией, совпадающей с изображением верхней части подложки на воздухе (средняя линия на ОКТ-изображении, как это проиллюстрировано на рис. 3).

В общем случае образец может находиться не только на воздухе, но и быть окруженным физиологическим раствором или иммерсионной жидкостью, поэтому обозначим средний групповой ПП образца на этой линии сканирования как n_{g1} . Тогда оптическая длина пути через образец на данной линии сканирования (две вертикальные стрелки для d_s и Δ_R на рис. 3) будет определяться как $l_s = n_{g1} d_s$, где d_s — геометрическая длина пути через образец. В отсутствие образца той же геометрической длины пути d_s соответствовала бы оптическая длина пути $n_{g0} d_s$, где n_{g0} — групповой показатель преломления среды, окружающей образец (физиологический раствор, иммерсионная жидкость или воздух). Смещение точки изображения верхней поверхности предметного стекла при наличии образца относительно ее положения в отсутствие образца на ОКТ-изображении (стрелка Δ_R на рис. 3) можно выразить как

$$\Delta_R = l_s - n_{g0} d_s = l_s - n_{g0} \frac{l_s}{n_{g1}}.$$

(2)

Определив l_s и Δ_R по ОКТ-изображению, можно рассчитать искомый показатель преломления n_{g1} по формуле

$$n_{g1} = \frac{n_{g0} l_s}{l_s - \Delta_R}.$$

(3)

Средний групповой ПП образца n_g определялся при усреднении значений n_{g1} , полученных для 3–5 усредненных линий для А-сканирования. Групповой ПП образцов ткани и окружающей среды рассчитывался также по дисперсионным характеристикам для фазового показателя

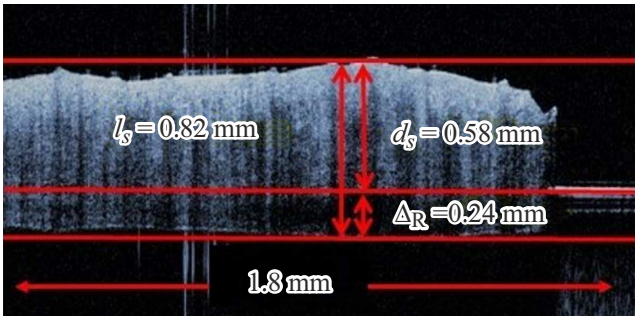


Рис. 3. ОКТ-В-скан, зарегистрированный вдоль поверхности образца ткани и за его пределами, где есть только воздух с ПП, близким к 1, поэтому справа хорошо видно отражение от верхней части подложки, на которой лежит образец, а ее изображение приподнято на величину Δ_R по сравнению с задней границей изображения образца (слева).

преломления, измеренным с помощью многоволнового рефрактометра Аббе, с использованием следующего общего соотношения [40]:

$$n_g(\lambda_0) = n_p(\lambda_0) - \lambda_0 \frac{dn_p}{d\lambda} \Big|_{\lambda=\lambda_0},$$

(4)

где n_p — фазовый ПП среды, n_g — групповой ПП среды, λ_0 — центральная длина волны в вакууме.

Групповой ПП физиологического раствора при обработке данных предполагался приблизительно равным групповому ПП воды. Для расчета группового ПП воды были использованы данные работы [41] по спектральной зависимости фазового показателя преломления, давшие значение $n_g = 1.3416$ для $\lambda_0 = 930$ nm, что хорошо совпало с табличным значением для воды $n_g = 1.3420$ на длине волны 1014 nm [42]. Для расчета ПП образцов было принято, что для воздуха $n_{g0}(930\text{ nm}) = 1$, а для физиологического раствора $n_{g0}(930\text{ nm}) = 1.3416$.

Для уменьшения спекл-шума записывалось 30 А-сканов, которые были усреднены в один скан (усреднение по времени). Двумерные ОКТ-томограммы для *ex vivo* образцов тканей головы крысы (кожа скальпа, кость черепа, ТМО, серое вещество, белое вещество) представлены на рис. 4, где хорошо видно смещение изображения верхней поверхности предметного стекла. На ОКТ-изображениях хорошо видны различия в структуре изображений поперечного сечения срезов тканей головы (рис. 4, *a, b*) и головного мозга (рис. 4, *d, e*), при этом белое вещество мозга (рис. 4, *e*) имеет большую интенсивность отраженного сигнала образец/воздух, чем образец серого вещества мозга (рис. 4, *d*), что указывает на более высокий показатель преломления рассеивателей в среде белого вещества. Действительно, средний групповой ПП белого вещества составил 1.379, а для серого вещества несколько меньше — 1.368. Различие между ПП в каждой анатомической области может быть связано с разными типами клеток, их плотностью и раз-

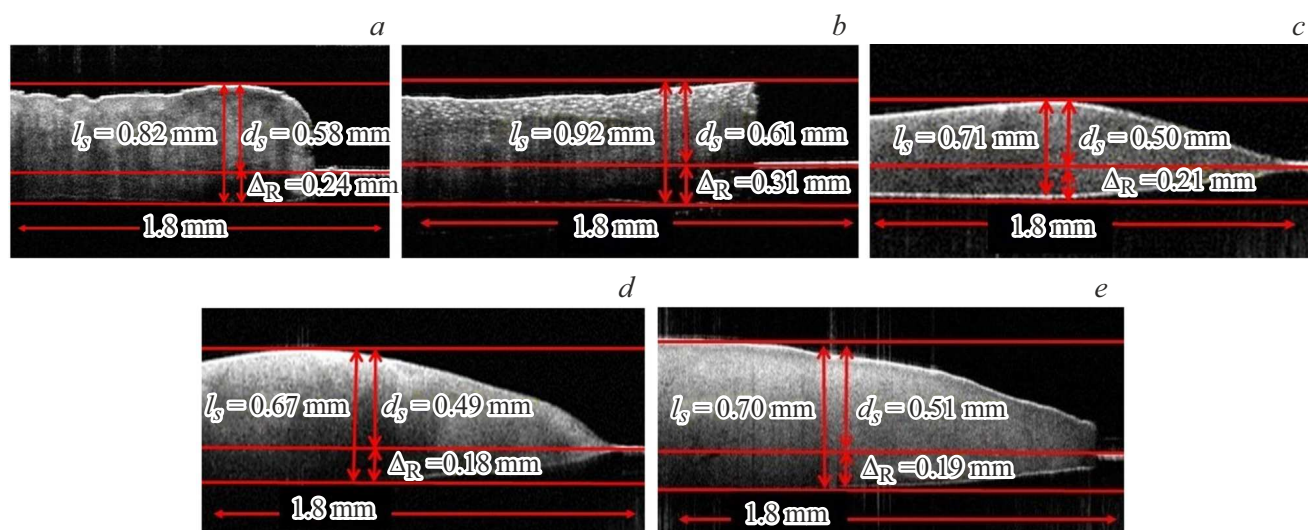


Рис. 4. ОКТ-изображения образцов тканей головы крысы: кожа скальпа (а), кость черепа (b), ТМО (с), серое вещество мозга (d) и белое вещество мозга (e).

Таблица 3. Значения ПП (средние $\pm$ стандартное отклонение) дистиллированной воды и серого вещества мозга крыс при комнатной температуре 22 °С, измеренные на рефрактометре Atago с интерференционными фильтрами и рассчитанные по этим измерениям значения для фазового ПП $n_p(\lambda_0)$

λ , nm	Показатель преломления Рефрактометр Аббе		Показатель преломления $n_p(\lambda_0)$	
	Вода (контроль)	Серое вещество	Вода (контроль)	Серое вещество
480	1.3366 $\pm$ 0.0049	1.3691 $\pm$ 0.0059	1.3371 $\pm$ 0.0061	1.3711 $\pm$ 0.0056
486	1.3358 $\pm$ 0.0044	1.3689 $\pm$ 0.0075	1.3360 $\pm$ 0.0028	1.3696 $\pm$ 0.0049
546	1.3342 $\pm$ 0.0042	1.3661 $\pm$ 0.0067	1.3344 $\pm$ 0.0063	1.3663 $\pm$ 0.0047
589	1.3329 $\pm$ 0.0019	1.3645 $\pm$ 0.0066	1.3331 $\pm$ 0.0051	1.3652 $\pm$ 0.0036
644	1.3313 $\pm$ 0.0027	1.3628 $\pm$ 0.0065	1.3320 $\pm$ 0.0046	1.3631 $\pm$ 0.0047
656	1.3303 $\pm$ 0.0041	1.3621 $\pm$ 0.0065	1.3310 $\pm$ 0.0042	1.3628 $\pm$ 0.0057
680	1.3299 $\pm$ 0.0019	1.3611 $\pm$ 0.0065	1.3306 $\pm$ 0.0029	1.3619 $\pm$ 0.0061
800	1.3283 $\pm$ 0.0029	1.3591 $\pm$ 0.0062	1.3289 $\pm$ 0.0041	1.3596 $\pm$ 0.0066
930	1.3257 $\pm$ 0.0028	1.3572 $\pm$ 0.0062	1.3267 $\pm$ 0.0037	1.3579 $\pm$ 0.0058
1100	1.3225 $\pm$ 0.0036	1.3537 $\pm$ 0.0065	1.3233 $\pm$ 0.0029	1.3541 $\pm$ 0.0049
1300	1.3179 $\pm$ 0.0061	1.3490 $\pm$ 0.0062	1.3181 $\pm$ 0.0027	1.3496 $\pm$ 0.0043
1550	1.3135 $\pm$ 0.0047	1.3452 $\pm$ 0.0059	1.3139 $\pm$ 0.0041	1.3466 $\pm$ 0.0057

личиями в объемных фракциях вне- и внутриклеточного вещества в их структурах.

В табл. 2 представлены данные измерений группового ПП тканей головы крыс методом ОКТ.

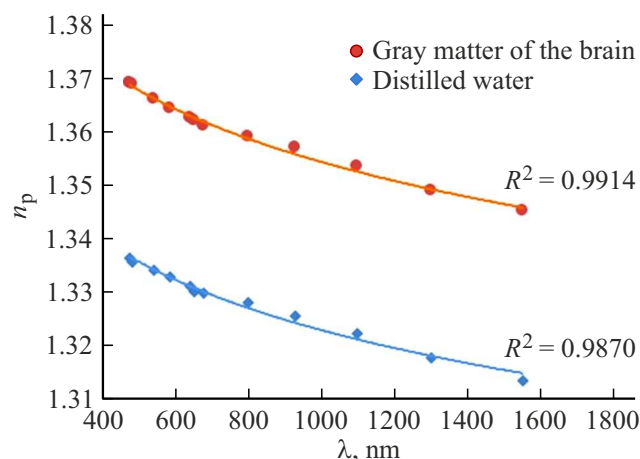
3.2. Измерение ПП с помощью рефрактометра Аббе

При измерении ПП с помощью рефрактометра Аббе (рис. 2, b) длина волны источника света определяется выбором интерференционного фильтра, настроенного на определенную длину волны. Имеющиеся интерференционные фильтры позволяли проводить измерения на следующих центральных длинах волн в полосе, определяе-

мой полосой пропускания фильтров по уровню FWHM: 480($\pm$ 2), 486($\pm$ 2), 546($\pm$ 2), 589($\pm$ 2), 644($\pm$ 2), 656($\pm$ 2), 680($\pm$ 5), 800($\pm$ 8), 930($\pm$ 6), 1100($\pm$ 26), 1300($\pm$ 25) и 1550($\pm$ 25) nm. Многие из этих длин волн используются в лазерных источниках света. Поскольку — фильтры имеют определенную полосу пропускания, рефрактометр измеряет групповой ПП $n_g(\lambda_0)$. Для определения значения фазового ПП $n_p(\lambda_0)$ на данной длине волны λ_0 использовали соотношение (4), в котором дисперсию $\frac{dn_p}{d\lambda}$ аппроксимировали с помощью известной дисперсии ПП воды [41]. Далее для аппроксимации дисперсионной зависимости ПП образцов в диапазоне 480–1550 nm использовали полученные значения фазового ПП для

Таблица 4. Коэффициенты разложения показателя преломления серого вещества мозга крыс и дистиллированной воды по формуле Зельмейера в области 480–1550 nm

Коэффициенты Зельмейера	A_1	A_2	B_1, nm^{-2}	$B_2, 10^{10} \text{nm}^{-2}$	R^2
Дистиллированная вода	0.76671	718.67	6876.16	3.8869	0.996
Серое вещество	0.84646	688.26	8392.12	4.064	0.996

**Рис. 5.** Дисперсионные зависимости для фазового ПП $n_p(\lambda_0)$ серого вещества мозга крыс и дистиллированной воды, рассчитанные с использованием измерений на рефрактометре Atago.

каждой центральной длины волны $n_p(\lambda_0)$ и формулу Зельмейера

$$n_p^2(\lambda) = 1 + \frac{A_1 \lambda^2}{\lambda^2 - B_1} + \frac{A_2 \lambda^2}{\lambda^2 - B_2}, \quad (5)$$

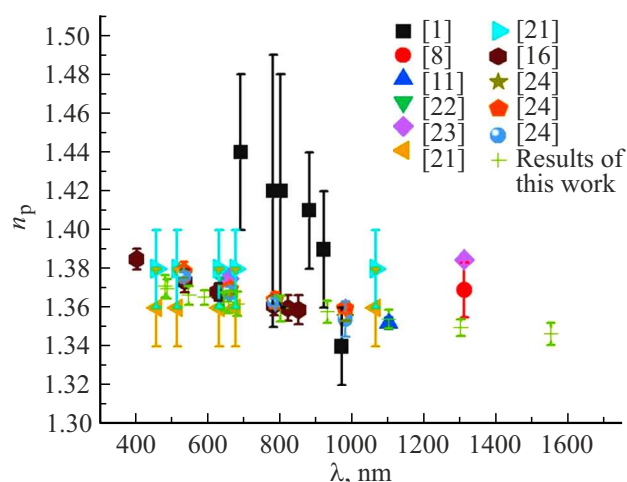
где A_1 , A_2 , B_1 и B_2 — эмпирические константы. Формула Зельмейера дает хорошее согласие при описании дисперсионной зависимости ПП многокомпонентных систем вблизи полос поглощения исследуемой среды [43–59]. Математические расчеты проводились в пакете программ Origin ProLab (OriginLab Corp., USA).

Результаты измерений ПП на рефрактометре Atago для дистиллированной воды (контроль) и серого вещества головного мозга крыс на 12 длинах волн спектральной области 480–1550 nm при комнатной температуре и расчетные значения фазового ПП и их интерполяция для 3 образцов каждого типа ткани представлены в табл. 3.

На рис. 5 показаны дисперсионные кривые для серого вещества мозга крыс и дистиллированной воды, измеренные на рефрактометре Аббе и рассчитанные по этим измерениям значения фазового ПП $n_p(\lambda_0)$. Символы представляют собой экспериментальные данные из табл. 4, а линии соответствуют аппроксимации

Таблица 5. Значения измеренного на ОКТ группового ПП (n_g^{OCT}) и рассчитанного из этих измерений фазового ПП (n_p^{OCT}), а также фазового ПП (n_p^{Abbe}), полученного из измерений на рефрактометре Аббе, для серого вещества головного мозга крыс

$\lambda \text{ nm}$	n_g^{OCT}	n_p^{OCT}	n_p^{Abbe}
930	1.368 ± 0.007	1.351 ± 0.006	1.3572 ± 0.0062

**Рис. 6.** Сравнение значений фазового ПП для серого вещества мозга крысы, полученные в настоящей работе, с результатами других работ (табл. 3 и 6).

этих данных по формуле Зельмейера (уравнение (5)), параметры которой приведены в табл. 4.

Как следует из табл. 4, для серого вещества мозга крыс и дистиллированной воды измеренные значения ПП хорошо соответствуют формуле Зельмейера с коэффициентом корреляции R^2 , равным или лучше 0.987 и 0.991 соответственно.

3.3. Обсуждение результатов

Полученные результаты для измерений группового ПП на ОКТ и дисперсии фазового ПП с помощью многоволнового рефрактометра позволяют рассчитать значение фазового ПП преломления на длине волны 930 nm из данных для ОКТ и сравнить их с данными

Таблица 6. Сравнение полученных результатов с литературными данными

Ткань	Длина волны, nm	Показатель преломления	Метод измерения, литература
Мозг мыши	690 780 800 880 920 970	1.44 ± 0.04 1.42 ± 0.07 1.42 ± 0.06 1.41 ± 0.03 1.39 ± 0.03 1.34 ± 0.02	Метод пространственной модуляции диффузного отражения, n_p [1]
Мозг мыши: срез $5 \mu\text{m}$, фиксированный	633	1.368 ± 0.007	Гильбертова фазовая микроскопия, n_p [22]
Клеточные тела корковых нейронов мыши в культуре (2 отдельные клетки)	658	1.3751 ± 0.0003 1.3847 ± 0.0003	Цифровая голографическая микроскопия, n_p [23]
Мозг человека: серое вещество; белое вещество	456/514/630 /675/1064	1.36 ± 0.02 1.38 ± 0.02	Многokrратное лазерное отражение от тонких образцов ткани, n_p [21]
Мозг кролика: серое вещество; белое вещество	456/514/630 /675/1064	1.36 ± 0.02 1.36 ± 0.02	Многokrратное лазерное отражение от тонких образцов ткани, n_p [21]
Мозг кролика: серое вещество, <i>ex vivo</i>	401.4 534.6 626.6 782.1 820.8 850.0	1.3850 ± 0.0053 1.3736 ± 0.0058 1.3680 ± 0.0045 1.3611 ± 0.0050 1.3597 ± 0.0066 1.3589 ± 0.0076	Призменный лазерный метод, n_p [16]
Кожа скальпа кролика, <i>ex vivo</i>	532 660 785 980	1.3769 ± 0.002 1.3691 ± 0.002 1.3631 ± 0.003 1.3551 ± 0.002	Призменный лазерный метод, n_p [24]
Кость черепа кролика, <i>ex vivo</i>	532 660 785 980	1.3784 ± 0.005 1.3695 ± 0.001 1.3637 ± 0.004 1.3596 ± 0.002	Призменный лазерный метод, n_p [24]
Мозг кролика <i>ex vivo</i>	532 660 785 980	1.3761 ± 0.002 1.3676 ± 0.003 1.3626 ± 0.002 1.3541 ± 0.009	Призменный лазерный метод, n_p [24]
Мозг крысы: серое вещество; белое вещество	1310	1.369 ± 0.014 1.407 ± 0.015	ОКТ, FWHM 75 nm, n_g [8]
Мозг крысы: серое вещество	1100	1.3526 ± 0.0029	ОКТ, FWHM 200 nm, n_p с учетом дисперсии [11]
Кожа скальпа Кость черепа ТМО Серое вещество Белое вещество	930	1.429 ± 0.006 1.510 ± 0.016 1.424 ± 0.020 1.368 ± 0.007 1.379 ± 0.007	ОКТ, n_g , FWHM 100 nm, настоящая работа

измерений фазового ПП на рефрактометре на примере серого вещества мозга крысы. Эти данные представлены в табл. 5, где показаны групповой ПП (n_g^{OCT}) и фазовый ПП (n_p^{OCT}), рассчитанные по формуле (4) из ОКТ-измерений на основе дисперсионной кривой, полученной с использованием рефрактометрических измерений, а также фазовый ПП (n_p^{Abbe}) на длине волны 930 nm, определенный с помощью рефрактометра с учетом конечной ширины соответствующего интерференционного фильтра. Хорошо видно, что измеренное и рассчитанное значения фазового ПП незначительно отличаются друг от друга, что находится в пределах экспериментальной погрешности измерений ОКТ и варибельности образцов — отличие составляет 0.006.

Для сравнения полученных в настоящей работе данных для ПП тканей головы в табл. 6 приведены соответствующие литературные данные.

Приведенные в табл. 3 и 6 сводные данные позволяют сравнить экспериментальные данные, полученные в настоящей работе, с литературными. Так, по результатам работы [8], где ОКТ-измерения проведены на средней длине волны 1310 nm для срезов серого и белого вещества мозга крысы, $n_g = 1.369 \pm 0.014$ и 1.407 ± 0.015 , что хорошо совпадает с данными настоящей работы $n_g = 1.368 \pm 0.007$ и 1.379 ± 0.007 с учетом различий в центральных длинах волн. Значения фазового ПП серого вещества мозга крысы в наших измерениях (табл. 3), равные $n_p = 1.3631 \pm 0.0047$ на длине волны 644 nm и $n_p = 1.3619 \pm 0.0061$ на длине волны 680 nm, хорошо соответствуют значениям фазового ПП среза мозга мыши, измеренного примерно на тех же длинах волн, $n_p = 1.368 \pm 0.007$ для 633 nm [22] и $n_p = 1.44 \pm 0.04$ для 690 nm [1]. Фазовый ПП серого вещества мозга человека на длинах волн 456/514/630/675/1064 nm, равный $n_p = 1.36 \pm 0.02$ [21], также хорошо вписывается в общие данные в пределах различий ПП мозга человека и животных. Для серого вещества мозга кролика различными научными группами получены очень близкие результаты: $n_p = 1.3736 \pm 0.0058$ на 534.6 nm [16] и $n_p = 1.3761 \pm 0.0020$ на 532 nm [24].

Для наглядности на рис. 6 представлено сравнение полученных в настоящей работе экспериментальных данных для фазового ПП серого вещества мозга крысы с литературными данными из табл. 6.

Полученные в настоящей работе экспериментальные данные для значений фазового ПП серого вещества мозга хорошо согласуются с литературными данными для животных и человека, а наблюдаемые отличия, вероятнее всего, могут быть связаны с различными методами измерения фазового ПП, с пробоподготовкой образцов и их физиологическими особенностями.

4. Заключение

В настоящей работе представлены результаты измерений одного из важнейших оптических параметров

биологических сред — ПП пяти типов тканей головы крысы (кожи скальпа, кость черепа, ТМО, серого и белого вещества мозга) *ex vivo* ОКТ (на длине волны 930 nm в полосе 100 nm) и для серого вещества мозга крысы с помощью многоволнового рефрактометра Аббе (в диапазоне длин волн от 480 до 1550 nm). Ткань серого вещества мозга показала нормальную дисперсию со снижением ПП при увеличении длины волны. Проведено сравнение величин фазового ПП для серого вещества мозга крысы, измеренного с помощью призменного рефрактометра Аббе и рассчитанного о данным измерений группового ПП с помощью ОКТ с учетом измеренной дисперсии ПП вблизи центральной длины волны ОКТ 930 nm. Хорошо видно, что измеренное и рассчитанное значения фазового ПП незначительно отличаются друг от друга, что находится в пределах экспериментальной погрешности измерений ОКТ и варибельности образцов — 0.006. Полученные значения ПП хорошо согласуются с известными литературными данными. Эти результаты имеют большую практическую ценность для развития и применения методов моделирования распространения оптического излучения в тканях головы для решения прямых и обратных задач оптической биопсии и визуализации, в том числе при селективном иммерсионном просветлении отдельных тканей для улучшения качества и увеличения глубины получаемых изображений.

Финансирование работы

Работа выполнена при поддержке РФФ гранта No 23-14-00287.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них отсутствует конфликт интересов.

Список литературы

- [1] D. Abookasis, O. Meitav. In: Proc. SPIE 10864, Clinical and Translational Neurophotonics 2019, 108640R (2019).
- [2] Z. Wang, K. Tangella, A. Balla, G. Popescu. J. Biomed. Opt., **16** (11), 116017 (2011). DOI: 10.1117/1.3656732
- [3] E.N. Lazareva, V.V. Tuchin. J. Biomed. Opt., **23** (3), 1–9 (2018). DOI: 10.1117/1.JBO.23.3.035004
- [4] E. Osiac, S.I. Mitran, C.N. Manea, A. Cojocaru, G.C. Rosu, M. Osiac, D.N. Pirici, A.T. Bălșeanu, B. Cătălin. Microsc. Res. Tech., **84** (3), 422–431 (2021). DOI: 10.1002/jemt.23599
- [5] J.M. Lee, I. Han, K.H. Nam, D.H. Kim, S. Song, H. Park, H. Kim, M. Kim, J. Choi, J.I. Lee. J. Biophotonics, **14** (11), e202100143 (2021). DOI: 10.1002/jbio.202100143
- [6] J. Möller, A. Bartsch, M. Lenz, I. Tischoff, R. Krug, H. Welp, M.R. Hofmann, K. Schmieder, D. Müller. Int. J. Comput. Assist. Radiol. Surg., **16** (9), 1517–1526 (2021). DOI: 10.1007/s11548-021-02412-2

- [7] A.J. Fitzgerald, X. Tie, M.J. Hackmann, B. Cense, A.P. Gibson, V.P. Wallace. *Biomed. Opt. Express*, **11** (3), 1417–1431 (2020). DOI: 10.1364/BOE.378506
- [8] J. Sun, S.J. Lee, L. Wu, M. Sarntinoranont, H. Xie. *Opt. Express*, **20** (2), 1084–95 (2012). DOI: 10.1364/OE.20.001084
- [9] C.J. Liu, W. Ammon, R.J. Jones, J. Nolan, R. Wang, S. Chang, M.P. Frosch, A. Yendiki, D.A. Boas, C. Magnain, B. Fischl, H. Wang. *Biomed. Opt. Express*, **13** (1), 358–372 (2021).
- [10] G. Min, W.J. Choi, J.W. Kim, B.H. Lee. *Opt. Express*, **21** (24), 29955–67 (2013). DOI: 10.1364/OE.21.029955
- [11] J. Binding, J. Ben Arous, J.F. Léger, S. Gigan, C. Boccara, L. Bourdieu. *Opt. Express*, **19** (6), 4833–47 (2011). DOI: 10.1364/OE.19.004833
- [12] A.S. Shanshool, E.N. Lazareva, V.V. Tuchin. In: *Proc. SPIE 12192, Optical Technologies for Biology and Medicine*, 1219212 (2022). DOI: 10.1117/12.2634156
- [13] A. García-Valenzuela, H. Contreras-Tello. *Opt. Lett.*, **38** (5), 775–7 (2013). DOI: 10.1364/OL.38.000775
- [14] X. Xu, R.K. Wang, J.B. Elder, V.V. Tuchin. *Phys. Med. Biol.*, **48** (1), 1205–1221 (2003).
- [15] W. Choi, C. Fang-Yen, K. Badizadegan, S. Oh, N. Lue, R.R. Dasari, M.S. Feld. *Nat. Methods*, **4** (9), 717–9 (2007). DOI: 10.1038/nmeth1078
- [16] T.M. Gonçalves, I.S. Martins, H.F. Silva, V.V. Tuchin, L.M. Oliveira. *Photochem.*, **1** (2021), 190–208 (2021). DOI: 10.3390/photochem1020011
- [17] J.J. Dirckx, L.C. Kuypers, W.F. Decraemer. *J. Biomed. Opt.*, **10** (4), 44014 (2005). DOI: 10.1117/1.1993487
- [18] P. Sawosz, S. Wojtkiewicz, M. Kacprzak, W. Weigl, A. Borowska-Solonyanko, P. Krajewski, A. Liebert. *Biomed. Opt. Express*, **7** (1), 5010–5020 (2016).
- [19] J. Yang, I.A. Chen, S. Chang, J. Tang, B. Lee, K. Kılıç, S. Sunil, H. Wang, D. Varadarajan, C. Magnain, S.C. Chen, I. Costantini, F. Pavone, B. Fischl, D.A. Boas. *Neurophotonics*, **7** (4), 045005 (2020).
- [20] М.Е. Швачкина, Д.Д. Яковлев, Е.Н. Лазарева, А.Б. Правдин, Д.А. Яковлев. *Опт. и спектр.*, **2** (127), 337–346 (2019).
- [21] W. Gottschalk. *Ein Messverfahren zur Bestimmung der optischen Parameter biologischer Gewebe in vitro* (Universität Karlsruhe, Karlsruhe, 1993).
- [22] N. Lue, J. Bewersdorf, M.D. Lessard, K. Badizadegan, R.R. Dasari, M.S. Feld, G. Popescu. *Opt. Lett.*, **32** (24), 3522–3524 (2007).
- [23] B. Rappaz, P. Marquet, E. Cuche, Y. Emery, C. Depeursinge, P. Magistretti. *Opt. Express*, **13** (23), 9361–9373 (2005).
- [24] A.S. Shanshool, E.N. Lazareva, O. Hamdy, V.V. Tuchin. *Materials*, **15** (1), 5696 (2022). DOI: 10.3390/ma15165696
- [25] J. Stritzel, M. Rahlves, B. Roth. *Opt. Lett.*, **40** (23), 5558–5561 (2015). DOI: 10.1364/OL.40.005558
- [26] T. Das, K. Bhattacharya. *Appl. Opt.*, **56** (33), 9241–9246 (2017).
- [27] J. Wang, Z. Deng, X. Wang, Q. Ye, W. Zhou, J. Mei, C. Zhang, J. Tian. *Biomed. Opt. Express*, **6** (7), 2536–2541 (2015).
- [28] H. Ding, J.Q. Lu, W.A. Wooden, P.J. Kragel, X-H. Hu. *Phys. Med. Biol.*, **51** (6), 1479–1489 (2006).
- [29] M. Matiatou, P. Giannios, S. Koutsoumpas, K.G. Toutouzias, G.C. Zografos, K. Moutzouris. *Results in Physics*, **22** (1), 103833 (2021).
- [30] A. Knüttel, S. Bonev, W. Knaak. *J. Biomed. Opt.*, **9** (2), 265–273 (2004).
- [31] S. Kim, J. Na, M.J. Kim, B.H. Lee. *Opt. Express*, **16** (8), 5516 (2008).
- [32] D.F. Murphy, D.A. Flavin. *Appl. Opt.*, **39** (1), 4607–4615 (2000).
- [33] T. Fukano, I. Yamaguchi. *Appl. Opt.*, **38** (1), 4065–4073 (1999).
- [34] S.A. Alexandrov, A.V. Zvyagin, K.K.M.B.D. Silva, D.D. Sampson. *Opt. Lett.*, **28**, 117–119 (2003).
- [35] X. Wang, C. Zhang, L. Zhang, L. Wu, J. Tian. *J. Biomed. Opt.*, **7**, 628–632 (2002).
- [36] CIOMS&ICLAS, URL: <https://iclas.org/cioms-and-iclas>
- [37] W.V. Sorin, D.F. Gray. *IEEE Photonics Technology Letters*, **4** (1), 105–107 (1992).
- [38] M.S. Wróbel, A.P. Popov, A.V. Bykov, M. Kinnunen, M. Jędrzejewska-Szczerska, V.V. Tuchin. *J. Biomed. Opt.*, **20** (4), 045004 (2015).
- [39] D.A. Zimnyakov, A.B. Pravdin, L.V. Kuznetsova, V.I. Kochubey, V.V. Tuchin, R.K. Wang, O.V. Ushakova. *JOSA*, **24** (3), 711–723 (2007).
- [40] M. Born, E. Wolf. *Principles of optics: Electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light*, 6th ed. (Pergamon Press-Elsevier, Oxford, 2013).
- [41] M. Daimon, A. Masumura. *Appl. Opt.*, **46** (18), 3811–3820 (2007). DOI: 10.1364/ao.46.003811
- [42] M.N. Polyanskiy. *Scientific Data*, **11** (94), (2024). DOI: 10.1038/s41597-023-02898-2
- [43] O. Zhernovaya, O. Sydoruk, V. Tuchin, A. Douplik. *Phys. Med. Biol.*, **56** (13), 4013–4021 (2011). DOI: 10.1088/0031-9155/56/13/017
- [44] O. Sydoruk, O. Zhernovaya, V. Tuchin, A. Douplik. *J. Biomed. Opt.*, **17** (11), 115002 (2012). DOI: 10.1117/1.JBO.17.11.115002
- [45] E.N. Lazareva, V.V. Tuchin. *J. Biomed. Photon. Eng.*, **4** (1), 010503 (2018).
- [46] I.Y. Yanina, A.P. Popov, A.V. Bykov, I.V. Meglinski, V.V. Tuchin. *J. Biomed. Opt.*, **23** (1), 016003 (2018). DOI: 10.1117/1.JBO.23.1.016003
- [47] A.N. Bashkatov, K.V. Berezin, K.N. Dvoretzkiy, M.L. Chernavina, E.A. Genina, V.D. Genin, V.I. Kochubey, E.N. Lazareva, A.B. Pravdin, M.E. Shvachkina, P.A. Timoshina, D.K. Tuchina, D.D. Yakovlev, D.A. Yakovlev, I.Yu. Yanina, O.S. Zhernovaya, V.V. Tuchin. *J. Biomed. Opt.*, **23** (9), 091416 (2018). DOI: 10.1117/1.JBO.23.9.091416
- [48] I. Carneiro, S. Carvalho, V. Silva, R. Henrique, L. Oliveira, V.V. Tuchin. *J. Biomed. Opt.*, **23** (12), 121620 (2018). DOI: 10.1117/1.JBO.23.12.121620
- [49] G.J. Tearney, M.E. Brezinski, J.F. Southern, B.E. Bouma, M.R. Hee, J.G. Fujimoto. *Opt. Lett.*, **20** (21), 2258–2260 (1995).
- [50] H. Fu, W. Gao, Z. Lin, Z. Zeng, W. Shi, J. Zhang. *Photonics*, MDPI, **10** (7), 841 (2023).
- [51] R. Khan, B. Gul, Sh. Khan, H. Nisar, I. Ahmad. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, **33** (1), 102192 (2021).
- [52] H. Maruyama, S. Inoue, T. Mitsuyama, M. Ohmi, M. Haruna. *Appl. Opt.*, **41**, 1315–1322 (2002).
- [53] M. Ohmi, H. Nishi, T. Konishi, Y. Yamada, M. Haruna. *Meas. Sci. Technol.*, **15**, 1531–1535 (2004).
- [54] A. Shirkavand, S. Farivar, E. Mohajerani, L. Ataie-Fashtami, M.H. Ghazimoradi. *Lasers in Surgery and Medicine*, **51** (8), 742–750 (2019). DOI: 10.1002/lsm.23095

- [55] C. Cairos, R. Oliva-García, G. Siverio, J. M. Trujillo-Sevilla, J. Manuel Rodríguez-Ramos, A. Acebes. *Opt. Materials*, **142**, 114087 (2023).
- [56] L. Benatto, O. Mesquita, L.S. Roman, M. Koehler, R.B. Capaz, G. Candiotto. *Computer Physics Commun.*, **298**, 109100 (2024). DOI: 10.1016/j.cpc.2024.109100
- [57] E.N. Lazareva, L. Oliveira, I.Yu. Yanina, N.V. Chernomyrdin, G.R. Musina, D.K. Tuchina, A.N. Bashkatov, K.I. Zaytsev, V.V. Tuchin. *Refractive index measurements of tissue and blood components and OCAs in a wide spectral range. In: Handbook of tissue optical clearing: New prospects in optical imaging*, eds. V.V. Tuchin, D. Zhu, E.A. Genina (Taylor & Francis Group LLC, CRC Press, Boca Raton, FL, 2022).
<https://www.routledge.com/Handbook-of-Tissue-Optical-Clearing-New-Prospects-in-Optical-Imaging/Tuchin-Zhu-Genina/p/book/9780367895099>
- [58] I.S. Martins, H.F. Silva, E.N. Lazareva, N.V. Chernomyrdin, K.I. Zaytsev, L.M. Oliveira, V.V. Tuchin. *Biomed. Opt. Express*, **14** (1), 249–298 (2023). DOI: 10.1364/BOE.479320
- [59] I.Yu. Yanina, E.N. Lazareva, V.V. Tuchin. *Appl. Opt.*, **57** (17), 4839–4848 (2018). DOI: 10.1364/AO.57.004839