

OCT - Nieuw licht voor de 21^e eeuw

Jeroen Kalkman • Biomedical Engineering & Physics groep • Academisch Medisch Centrum Amsterdam

Na een 20^e eeuw die wordt gezien als de eeuw van de elektronica wordt de 21^e eeuw wel gezien als de fotonische eeuw. In de afgelopen decennia heeft optische technologie een steeds grotere plaats in ons dagelijks leven ingenomen. Toepassingen in de telecommunicatie, dataopslag, geodesie en in beeldschermen zijn niet meer weg te denken uit de samenleving. Ook in de geneeskunde neemt het gebruik van optische technieken toe. Fotodynamische therapieën, laserbehandelingen en optische zuurstofsaturatie metingen zijn dagelijkse praktijk geworden. Sinds een jaar of tien is er in de klinische praktijk een nieuwe optische techniek die gebruikt wordt voor diagnose en de evaluatie van behandelingen: optische coherentie tomografie (OCT).

Medische diagnose en de evaluatie van behandelingen waren voor lange tijd alleen gebaseerd op informatie aan de buitenkant van het menselijk lichaam. Voor het kijken *in* het lichaam waren doktoren aangewezen op operaties, wat vaak een risicovolle zaak was. In de loop van de tijd zijn er manieren gevonden om niet invasief *in* het menselijk lichaam te kijken. Deze zijn gebaseerd op Röntgenstraling (computed tomography), radiogolven (magnetic resonance imaging), of ultrageluid. Aangezien mensen voornamelijk uit water bestaan is de absorptie van straling door water, zoals weergegeven in figuur 1, een bepalende factor in het afbeelden van biologische structuren in het menselijk lichaam. Zowel radiogolven, aan de kant van lange golflengtes, als ook Röntgenstraling, aan de kant van korte golflengtes, worden weinig geabsorbeerd door water. Er is ook een klein optisch venster in het midden van het golflengtebereik waar er weinig absorptie door water is. In dat venster bevindt zich de hele voor ons zichtbare wereld, echter hetzelfde venster kan worden gebruikt om biologische structuren af te beelden. Het gebruik van licht heeft veel voordelen: optische technieken zijn relatief goedkoop, licht is niet ioniserend en er kunnen afbeeldingen met een hoge spatiale resolutie mee worden gemaakt. Een nadeel van het gebruik van licht is de geringe afbeeldingsdiepte welke naast absorptie door water ook wordt veroorzaakt door de sterke verstrooiing in biologische weefsels. Aangezien de verstrooiing afneemt met toenemende golflengte hebben radiogolven hier niet veel last van. Ook Röntgenstraling heeft hier weinig last van aangezien brekingsindex verschillen in dit golflengtegebied zeer klein zijn. Echter, voor licht is dit een groot probleem omdat de verstrooiing vele malen sterker is dan de absorptie.

Voor het maken van een goede optische afbeelding is het belangrijk om zo goed mogelijk te bepalen waar het licht vandaan komt. Bijvoorbeeld bij het maken van een fotografische afbeelding kan binnen de diffractielimiet worden bepaald waar het opvallende licht wordt gereflecteerd en zodoende kan een goede afbeelding worden gemaakt. Voor een verstrooiend medium is dit echter moeilijk omdat niet bekend is welk pad het licht heeft afgelegd, hoe vaak het licht is verstrooid en hoe sterk de licht verstrooiing is.

Optische coherentie tomografie (OCT) is een techniek die de nadelige effecten van verstrooiing op de beeldvorming probeert te onderdrukken waardoor goede afbeeldingen van biologische weefsels gemaakt kunnen worden. Hier zal ik een overzicht geven van de werking van OCT, de recente ontwikkelingen van deze techniek en de toepassing daarvan in de kliniek.



Jeroen Kalkman studeerde experimentele natuurkunde aan de Vrije Universiteit in Amsterdam. Hij studeerde af in de Vaste Stof fysica op 'Waterstof diffusie in yttrium magnesium legeringen'. Zijn promotie-onderzoek deed hij in de Fotonische Materialen groep op het FOM instituut AMOLF. In 2005 promoveerde hij op het onderwerp 'Gecontroleerde spontane emissie in met Erbium gedoteerde microfotonische materialen' bij Prof. Albert Polman. Hij vervolgde zijn carrière bij Philips Research in Eindhoven waar hij werkte aan spoorgasdetectie in adem met behulp van fotoakoestiek. In 2007 begon hij als postdoctoraal onderzoeker in de Biomedical Engineering & Physics groep op het Academisch Medisch Centrum in Amsterdam. Zijn onderzoek richt zich op optische coherentie tomografie.

E-mail: j.kalkman@amc.nl

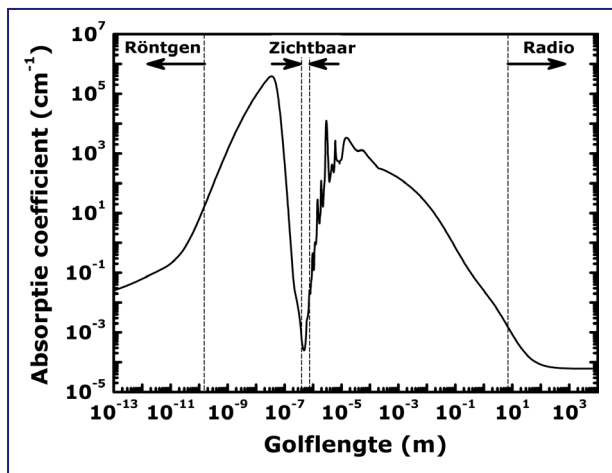


Fig. 1 Optische absorptie van water als functie van de golflengte. De gebieden met lage water absorptie worden gebruikt voor medische beeldvorming en zijn aangegeven. Overgenomen en aangepast uit J. D. Jackson, *Classical Electrodynamics*.

Tijdsdomein OCT

Een goede afbeelding van een verstrooiende biologische structuur kan worden gemaakt door van alle gedetecteerde fotonen te bepalen welk pad ze hebben genomen. De nadelige effecten van verstrooiing kunnen dan worden onderdrukt door alleen die fotonen te meten die op dat pad een enkele maal aan het object verstrooid zijn en de meervoudig verstrooide fotonen zoveel mogelijk niet te detecteren. Deze manier van detecteren kan door de fotonen gefocuseerd op het weefsel te projecteren en alleen de fotonen uit het focusvlak te detecteren. Meervoudig verstrooide fotonen zullen uit het focus bewegen en dus minder goed worden gedetecteerd. Dit is het principe van confocale microscopie en geeft een afbeeldingsdiepte van een paar honderd micrometer. Echter, voor grotere dieptes neemt het aantal meervoudig verstrooide fotonen steeds meer toe. Om ook voor grotere dieptes de meervoudig verstrooide fotonen genoeg te onderdrukken worden de padlengtes van de gedetecteerde fotonen nauwkeurig gemeten. Bij een vaste focus positie worden alleen die fotonen gemeten die een padlengte hebben die precies correspondeert met de positie van het focus. Fotonen met kortere en langere padlengtes worden daardoor sterk onderdrukt en de afbeeldingsdiepte kan worden vergroot tot een paar millimeter.

Het meten van de padlengte van de fotonen is moeilijk aangezien de snelheid van het licht in weefsel erg groot is. Elektronica is niet snel genoeg om de zeer korte tijden te meten van de terugverstrooide fotonen uit het weefsel (zoals wel kan bij ultrageluid). Er wordt daarom gebruik gemaakt van laagcoherente interferometrie.

De basis van een laagcoherente foton-padlengtemeting is de Michelson interferometer, zie figuur 2. Licht dat in de Michelson interferometer gaat wordt gesplitst met een deelspiegel en valt dan op een stationaire spiegel in één arm en een beweegbare referentiespiegel in een andere arm. Het licht wordt op beide spiegels gereflecteerd en interfereert op een fotodetector. Beschouw eerst een lichtbron met een kleine optische bandbreedte, bijvoorbeeld een laser. Bij het bewegen van de referentiespiegel zal de intensiteit op de detector sinusoidaal afhangen van de positie van de referentiespiegel doordat het licht, als functie van het padlengteverschil, afwisselend constructief en

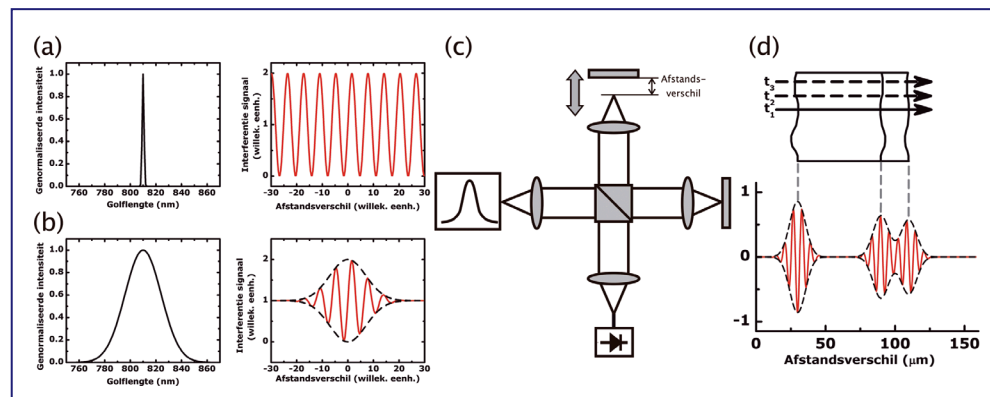


Fig. 2 (a) Hoogcoherente interferometrie, het maximum van het interferentiesignaal blijft constant over grote afstandsverschillen. (b) Laagcoherente interferometrie, de amplitude van de interferentie neemt af bij grotere afstandsverschillen. (c) De Michelson interferometer. (d) Principe van tijdsdomein OCT. Een biologisch sample dat uit meerdere laagjes bestaat geeft een aantal opeenvolgende interferentie signalen in de diepte. Door in de tijd opeenvolgende dieptescans te maken kan een driedimensionale (tomografische) afbeelding worden gemaakt.

destructief interfereert. De amplitude van deze sinus blijft zeer constant over grote afstanden, m.a.w. de bron heeft een grote coherentielengte.

Een lichtbron met een grote optische bandbreedte daarentegen, bijvoorbeeld een superluminiserende diode met een Gaussische optische spectrum, geeft een sinusoidaal patroon dat is gemoduleerd door een Gaussische omhullende. De breedte van de omhullende wordt bepaald door de bandbreedte van het bron spectrum. Hoe breder het bron spectrum hoe smaller de omhullende, m.a.w. de bron heeft een kleine coherentielengte. De omhullende wordt veroorzaakt doordat op het punt waarbij de referentie- en samplearm even lang zijn alle golflengtes hetzelfde interfereren (constructief/destructief). Echter, voor toenemend padlengteverschil tussen de armen zullen verschil-

lende golflengtes steeds meer verschillend gaan interfereren. Het resultaat is dat de som van de interferenties over alle golflengtes snel afneemt bij toenemende padlengteverschillen. Dit effect kan gebruikt worden om de positie van de spiegel in de samplearm binnen een coherentielengte nauwkeurig te meten. Bij het scannen van de referentiespiegel over een afstand waarin zich meerdere reflecterende oppervlakken bevinden worden een aantal opeenvolgende reflecties gemeten. In een verstrooiend biologisch sample zijn er een zeer groot aantal opeenvolgende reflecterende oppervlakken waarvan dan ook een dieptescan gemaakt kan worden op bovengenoemde manier.

Een tomografische afbeelding (letterlijk het afbeelden van plakken) wordt gemaakt door opeenvolgende dieptelijnen naast elkaar te maken met als uiteindelijk resultaat een driedimensionale afbeelding van de reflectiviteit in de diepte. In 1991 is dat voor het eerst gedemonstreerd [1] voor het afbeelden van het netvlies, waarvan een voorbeeld te zien is in figuur 3. Het netvlies kan goed gemeten worden, omdat het oogvocht transparant is en het netvlies bestaat uit een aantal zeer dunne lagen binnen een paar millimeter van het oppervlak van het weefsel. Daarnaast is de klinische relevantie zeer groot, omdat er een aantal ernstige oogziekten zijn die blindheid kunnen veroorzaken. Het afbeelden van het netvlies is op dit moment de belangrijkste toepassing van OCT.

afstand t.o.v. de referentiespiegel geplaatst dan zal er, ten gevolge van interferentie, een modulatie als functie van de golflengte ontstaan in het gemeten spectrum. De modulatieperiode in het interferentiespectrum komt overeen met het afstandsverschil tussen de twee armen van de Michelson interferometer. Hoe groter het afstandsverschil tussen de twee armen, hoe hoger de modulatiefrequentie. Met behulp van een Fourier transformatie van het interferentiespectrum kan in één keer de amplitudes van alle modulatiefrequenties (en dus alle dieptes) worden bepaald*. Oftewel, de reflectiviteit wordt voor alle padlengtes tegelijkertijd gemeten zonder de referentiearmspiegel te bewegen.

Het interferentiespectrum kan op twee manieren gemeten worden:

- 1) in de tijd worden opeenvolgende nauwbandige lijnen in de interferometer gestuurd en in de tijd wordt het spectrum gemeten, dit heet swept-source OCT.
- 2) een breedbandig spectrum wordt in de interferometer gestuurd en het spectrum aan de detector kant met een spectrometer en CCD camera gemeten, dit heet spectraal-domein OCT.

Belangrijk bij beide methoden is dat het spectrum voldoende snel wordt gemeten (sneller dan 10000 spectra per seconde). Bij te lage acquisitiesnelheid kunnen interferentiemodulaties uitwisselen door kleine bewegingen in het sample. Bij het meten op

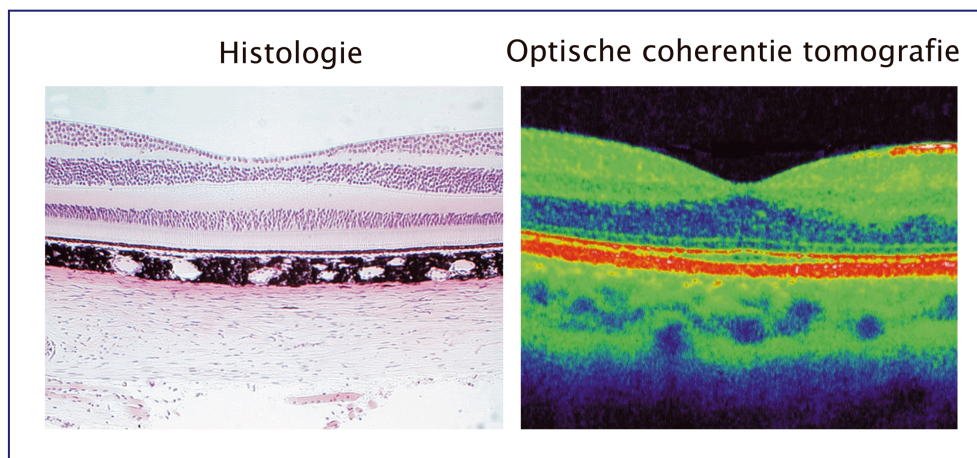


Fig.3) Doorsnede van het netvlies op de plaats van de fovea. Links een histologie afbeelding, rechts een OCT afbeelding (met kunstmatige kleurschaal) van het netvlies van de auteur.

Fourier-domein OCT

Een nadeel van tijdsdomein OCT is dat de referentiespiegel mechanisch gescand moet worden. Hierdoor is de (diepte-lijn) scansnelheid relatief laag. Er is echter een alternatieve manier om een OCT dieptescan te maken. Wordt de referentiearmspiegel vastgezet en de samplearmspiegel op een zekere

mensen (bewegingen!) is snelle acquisitie van het interferentiespectrum dus van groot belang. Bijkomend voordeel van Fourier-domein OCT is dat het totale optisch vermogen wordt verdeeld over verschillende detectoren waardoor de hagelruis wordt verminderd. Voor een plaatje met dezelfde beeldkwaliteit hoeft dus minder lang te worden gemeten.

*Dit heet Fourier-domein OCT omdat de diepte en het golfvector-domein Fourier geconjungeerde variabelen zijn. De diepte informatie is dus geïncodeerd in het spectrum en kan er d.m.v. een Fourier transformatie uit worden gehaald.

OCT voor de 21^e eeuw

De ontwikkeling van OCT in de afgelopen twintig jaar is samen te vatten in een kringloop. De eerste klinische toepassing van tijdsdomein OCT gaven uitzicht op een afzetmarkt. Dit leidde tot meer onderzoek. Hierdoor kwam er betere technologie beschikbaar zoals snelle CCD camera's en/of snelle verstembare lasers. Deze betere technologie leidde uiteindelijk weer tot betere (Fourier-domein) OCT apparatuur. Als gevolg hiervan kwamen er meer klinische toepassingen, etc. Het huidige toepassingsgebied van OCT wordt nog beperkt door de hoge kosten die gemaakt moeten worden voor het bouwen van een OCT systeem. De grote hoeveelheid bulk optica en detectoren nodig voor OCT maken een typisch 'state-of-the-art' OCT systeem kostbaar (in de orde van vijftigduizend euro). In onze groep werken we, samen met andere groepen in Nederland, aan zogeheten fotonische en elektronische integratie van componenten voor OCT. Door optische en elektronische componenten op een chip te plaatsen kunnen deze componenten in grote aantallen worden gemaakt en dus tegen lage prijs worden geproduceerd.

Binnen het MEMPHIS project (Merging Electronics and Micro & nano-PHotonics in Integrated Systems) werken we samen met de Universiteit Twente aan een spectraal-domein OCT systeem op een chip [2], zie figuur 4(a). Licht van een breedbandige lichtbron wordt ingekoppeld in een diëlektrische golfgeleider van silicium oxynitride. In deze golfgeleiders wordt het licht over de chip getransporteerd. Het licht wordt in de interferometer gesplitst, waarbij een deel naar de ringspiegel in de referentiearm gaat en een deel naar het sample aan het einde van de samplearm. Het licht wat van beide armen terugkomt gaat vervolgens naar het spectrometer deel. Daar splitst een zogeheten Arrayed Waveguide Grating (AWG) het licht in verschillende golflengtes waarna het interferentiespectrum wordt gemeten met een CCD array. Deze hele structuur past op een oppervlak van ongeveer 20 x 20 mm.

In een IOP Photonic Devices project werken we samen met de Technische Universiteit Eindhoven aan een snelle verstembare laser [3], zie figuur 4(b). Door middel van AWGs, waarin de fase in de armen kan worden veranderd, kan de resonantiegolflengte van de laser trillholte worden verstemd. De versterking in het indiumfosfide materiaal in de trillholte zorgt er vervolgens voor dat er een zeer nauwbandige laserlijn ontstaat bij de resonantiegolflengte. Door de AWGs snel te verstemmen kan de nauwbandige laser snel over een groot golflengtebereik worden verstemd (>100 nm). Deze snel verstembare laser kan vervolgens in een geïntegreerde interferometer worden gekoppeld om een swept-source OCT systeem te maken.

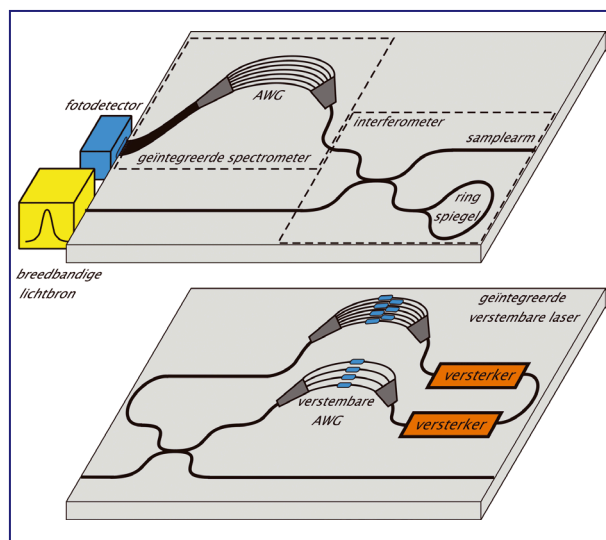


Fig.4) Twee geïntegreerde optische schakelingen. (a) Een optische schakeling waarbij zowel de Michelson interferometer als ook een spectrometer (AWG) op een chip zijn gesitueerd. (b) Een optische schakeling waar een verstembare laser op een chip is gesitueerd. De uitgang van de verstembare laser kan in een interferometer worden gekoppeld. Afbeeldingen met dank aan B.I. Akca en B. Tilma.

We werken in het laatstgenoemde project ook aan het ontdekken van nieuwe parameters, afgeleid van het OCT signaal, die indicatief kunnen zijn voor de fysiologische toestand van weefsel.

De basis van Fourier-domein OCT is het meten van een complex-waardig signaal. Deze heeft zowel een magnitude als een fase, welke kan worden gemeten als functie van de plaats- en/of de tijddimensie (zie tabel 1). In OCT wordt de OCT magnitude als functie van de plaats gebruikt voor het maken van afbeeldingen. De OCT fase als functie van de plaats wordt gebruikt voor refractometrie, d.w.z. het bepalen van de (groeps)brekingsindex als functie van de plaats. De OCT fase als functie van de tijd wordt gebruikt in Doppler OCT voor het meten van (bloed)stroming. Ons recente werk [4] bevindt zich in het kwadrant dat wordt gevormd door gebruik te maken van de variatie van de OCT magnitude in de tijd.

	Plaats	Tijd
OCT Magnitude	OCT beeldvorming (terugverstrooiingsamplitude)	Ons werk (Diffusie)
OCT Fase	OCT refractometrie (groeps brekingsindex)	Doppler OCT (stroming)

Tabel 1 Overzicht van de twee OCT signaal parameters die gemeten in de plaats- en tijddimensie. Ons werk richtte zich op het meten van de variatie van de OCT magnitude als functie van de tijd, welke gebruikt kan worden voor het meten van de diffusiecoëfficiënt.

De grootte van de OCT magnitude op één plaats in het sample wordt bepaald door het terugverstrooid licht binnen een coherentielengte. De amplitude van het licht op zijn beurt wordt gevormd door de optelling van de amplitudes en fases van het licht dat verstrooid wordt aan alle deeltjes die zich in de bundel bevinden. Voor bolvormige verstrooiers in een vloeistof veranderen de posities van de deeltjes continu door Brownse beweging. Daardoor verandert de fase van het aan het deeltje verstrooid licht. Dit heeft tot gevolg dat de totale amplitude van het gereflecteerde licht fluctueert door constructieve en destructieve interferentie wat weer tot gevolg heeft dat de OCT magnitude fluctueert. De fluctuaties van de OCT magnitude zijn gekwantificeerd door middel van de breedte van het vermogenspectrum van de OCT magnitude. Aan de hand hiervan kan voor elke positie in de dieptescan de diffusiecoëfficiënt worden bepaald. We hebben dit toegepast op het afbeelden van de diffusiecoëfficiënt in een sample van twee capillairen gevuld met oplossingen van verstrooiers, zie figuur 5. Elk capillair bevat een andere bol diameter. Op deze manier is met hoge snelheid een ruimtelijke afbeelding van de diffusiesnelheid met hoge nauwkeurigheid gemeten. Deze methode kan gebruikt worden om diffusie in complexe geometrische structuren (bijvoorbeeld in katalysatoren of aan oppervlaktes) te meten. Daarnaast kan deze methode wellicht gebruikt worden om perfusie in weefsel te kwantificeren.

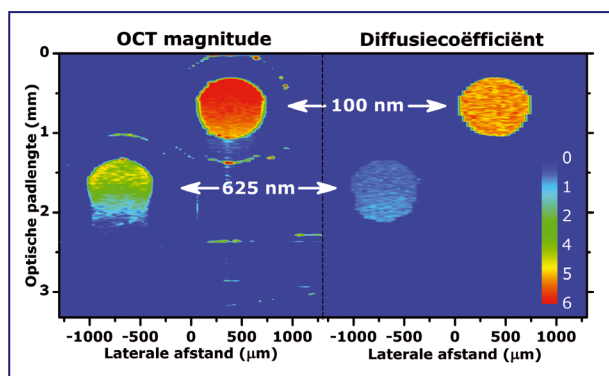


Fig.5) (links) OCT magnitude afbeelding van twee capillairen gevuld met oplossingen van 100 nm en 625 nm bolletjes. (rechts) Diffusiecoëfficiënt gemeten als functie van positie in de capillairen d.m.v. de door ons ontwikkelde techniek.

Gedreven door technologische vooruitgang in optische technologie zijn de ontwikkelingen in OCT zeer snel gegaan en is deze techniek een van de succesverhalen van optische afbeeldingstechnieken in de geneeskunde. Nieuwe uitdagingen liggen in het uitbreiden van het toepassingsgebied naar bijvoorbeeld (cardio)vasculaire beeldvorming als vervanging van ultrageluid. Daarnaast is het in combinatie met OCT bepalen van moleculaire informatie, welke veel specifiek is dan OCT m.b.t tot ziektes, een grote uitdaging. Stappen in die richting hebben we gezet [5] en kunnen in de toekomst leiden tot betere klinische diagnostiek.

Na een eeuw gedomineerd door elektronica is het nu tijd voor een voor een optische eeuw. Laagcoherente optische technieken zullen daar zeker een grote rol in spelen. ♦

- [1] D. Huang, E. A. Swanson, C. P. Lin, J. S. Schuman, W. G. Stinson, W. Chang, M. R. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C. A. Puliafito, en J. G. Fujimoto, "Optical coherence tomography", *Science* **254**, 1178-1181 (1991).
- [2] B.I. Akca, N. Ismail, F. Sun, A. Driessen, K. Wörhoff, M. Pollnau, R.M. de Ridder, V.Duc Nguyen, J. Kalkman, en T.G. van Leeuwen, "Integrated AWG spectrometer for on-chip optical coherence tomography and Raman spectroscopy", *ECIO 2010 Conf. abstract*.
- [3] B. W. Tilma, E. A. J. M. Bente, X.J.M. Leijten, R. Nötzel en M.K. Smit, "Design of an integrated electro-optically tunable filter for tunable laser purposes", *ECIO 2008 Conf. abstract*.
- [4] J. Kalkman, R. Sprik, en T. G. van Leeuwen, "Path-length-resolved diffusive particle dynamics in spectral-domain optical coherence tomography", *Phys. Rev. Lett.* (in press)
- [5] C. A. Patil, J. Kalkman, D. J. Faber, J. S. Nyman, T. G. van Leeuwen, and A. Mahadevan-Jansen, "Integrated system for combined Raman spectroscopy-spectral domain optical coherence tomography", *J. Biomed. Opt.* (in press)