5. OPTINĖ KOHERENTINĖ TOMOGRAFIJA

Optinė koherentinė tomografija (OKT) yra vis tobulėjanti optinė technologija, skirta įvairiems medicinos, biologijos bei medžiagotyros tyrimams. Pradžioje OKT buvo sukurta skaidrių biologinių audinių stebėjimui, ir jos privalumas buvo tas, kad ši technologija leidžia vaizdinti tuos audinius natūralioje aplinkoje mikronine skyra netaikant bandinio išpjovimo ar kitokios intervencijos į organizmą. OKT panaši į ultragarsinius tyrimus, tik čia panaudojama mažo koherentiškumo šviesa, o ne garsas. Šia tomografija, matuojant tiriamojo audinio išsklaidytos atgaline kryptimi šviesos intensyvumą, gaunami bandinio skersinio pjūvio nespalvoti ar dirbtinėmis spalvomis perteikti dvimačiai vaizdai. Nuo skirtingų bandinio audinių sluoksnių atsklidusios šviesos skirtuminio kontrasto pokyčiai gali būti atvaizduojami vos kelių mikronų tikslumu.

OKT plačiausiai taikoma biomedicinos srityje, kur naudojamų metodikų patikimumą ir efektyvumą veikia daugybė įvairių veiksnių. Gyvi audiniai pasižymi didele šviesos sklaida ir sugertimi, labai ribojančia optinių vaizdinimo priemonių panaudojimą. Kitos vaizdinimo metodikos, pavyzdžiui, ultragarsinės, medicinos poreikiams taikomos jau ilgai, tačiau kiekvienai jų būdingi savi apribojimai ir trūkumai. Pavyzdžiui, nors ultragarsinio vaizdinimo metodika gali suteikti informacijos apie audinius, esančius kur kas giliau nei pasiekiami OKT, gaunamų vaizdų skyros nepakanka visai naudingai informacijai gauti.

Pirmiausia OKT buvo panaudota oftalmologijoje (akių ligų mokslas), siekiant gauti didelės raiškos akies tinklainės ir priekinės akies tomografinį vaizdą. Akies audiniai yra permatomi ir akies dugną lengva pasiekti šviesa, tad diagnostiniams tyrimams labai patogu taikyti OKT. Ši metodika suteikia daugiau galimybių tinklainės ligų diagnostikai, kadangi ji leidžia atvaizduoti tinklainės pokyčius 10 mikronų raiška, viena eile geresne nei pasiekiama naudojant ultragarsą. Šiuo metu OKT taikoma ir daugeliui neskaidrių audinių tirti. Kitokiuose nei akies audiniuose prasiskverbimo gylį riboja optiniai nuostoliai, kuriuos sąlygoja sklaida ir sugertis. Akių tyrimai atliekami 800 nm bangos ilgio spinduliuote. Kadangi sklaida silpsta didėjant bangos ilgiui, nepermatomų audinių tyrimas įmanomas artimosios infraraudonosios spektro srities bangomis, pavyzdžiui, 1300 nm ilgio spinduliuote, nes tokio bangos ilgio spinduliuotę baltymai, vanduo, hemoglobinas ir lipidai sugeria silpniausiai. Daugelyje audinių 2–3 mm gylis pasiekiamas naudojant sistemas, kurių jautris 100–110 dB. Tokie vaizdinimo tyrimai gali būti atliekami įvairiose medicinos srityse, tokiose kaip vystymosi biologija, kardiologija, gastroenterologija, urologija ir neurochirurgija.

Nuo pat OKT taikymo praktiniams tikslams pradžios devintajame praėjusio amžiaus dešimtmetyje sparčiai vystėsi technologijos, skirtos vaizdinimo skyros gerinimui, vaizdų registravimo dažnio didinimui ir spindulio įvedimo į audinius ar bandinius metodų tobulinimui.

Taikant OKT principus informacijai iš bandinio ar audinio gauti buvo kuriamos ir kitos vaizdinimo metodikos. Kai kuriose jų taikomas optinio Doplerio signalo registravimas nuo judančių sklaidančių struktūrų, vaizdų formavimas grindžiamas grįžusios šviesos poliarizacijos būsena ar išgaunama spektroskopinė informacija, atspindinti lokalias audinio sugerties ir sklaidos savybes.

Didelės skyros OKT atliekama pasitelkiant trumpo koherentiškumo nuotolio spinduliuotę bei trumpų impulsų šviesos šaltinius. Jos pasiekta išilginė skyra geresnė nei 2 µm. Sparčioji realaus laiko OKT ypatinga tuo, kad atkuriant vaizdą galima registruoti 8 ar net daugiau kadrų per sekundę. OKT galimybės plėtojamos kraujo tėkmės vaizdinimui panaudojant Doplerio efektą ar tiriant audinių pažeidimus poliarizacijai jautriu OKT metodu panaudojant dvejopo lūžio rodiklio reiškinį. Skersinio vaizdinimo kateteriai ir priekinio vaizdų perdavimo bei kiti įrenginiai yra tobulinami taip, kad jais būtų galima tirti vidaus organus. Pavyzdžiui, OKT kateteriai yra derinami su endoskopinėmis sistemomis, kad būtų galima realaus laiko režimu stebėti ne tik eksperimentinių gyvūnų, bet ir pacientų vidaus organus.

Be didelės gaunamų vaizdų skyros, kiti vartotojo požiūriu svarbūs privalumai, užtikrinantys OKT metodo sėkmę, yra jo paprastumas ir santykinai nedidelis investicijų poreikio bei duomenų kokybės santykis. Sparčiai besivystančios fotoninės technologijos suteikia OKT didelius technologinius privalumus ją visapusiškai tobulinant, tad įrangos kaina mažėja, o jos įvairovė ir suteikiamos galimybės plečiasi. OKT metodikai dar tik kiek daugiau nei 15 metų, jos taikymą biomedicinos srityje plačiai nagrinėja daugybė mokslinių straipsnių (Huang ir kt.,1991; Brezinski ir Fujimoto, 1999; Schmitt, 1999).

5.1. Teoriniai OKT pagrindai

Optinė koherentinė tomografija – tai neinvazinis, nekontaktinis vaizdinimo metodas, taikomas aukštos skyros išilginio pjūvio audinių mikrostruktūros vaizdams gauti. Įprastinė laikinė OKT (angl. *time domain OCT*) leidžia registruoti šviesos aido vėlinimo trukmes, išilginio (ašinio) skenavimo atraminėje atšakoje metu matuojant interferencijos signalo pokyčius laike kiekvienoje spindulio, bandinio atšakoje skersai skenuojančio bandinį, vietoje. Vaizdinimo jautris mažėja, kai vaizdų registravimo sparta didinama pasirenkant didesnę išilginio skenavimo spartą (Rollins ir kt., 1998).

Furje OKT įgalina pasiekti didesnį jautrį ir vaizdinimo spartą negu laikinė OKT (Häusler ir Lindner, 1998; Nassif ir kt., 2004; Yun ir kt., 2003; Leitgeb ir kt., 2003). Matuojant šviesos aido



5.1 pav. OKT veikimo principas: (a) audinio išilginis nuskaitymas tam tikrame (skersinio nuskaitymo) bandinio taške atliekamas matuojant atspindėtos iš skirtingų atstumų (bandinio gylių) šviesos amplitudės pokyčius; (b) audinio skersinio pjūvio atvaizdas gaunamas atlikus daug išilginių nuskaitymų skirtinguose skersinio nuskaitymo taškuose, o paskui jie sujungiami į vientisą vaizdą; (c) sklidimo trukmės skirtumas tarp spindulio atraminėje atšakoje ir atspindėtosios nuo bandinio šviesos OKT sistemose dažnai matuojamas Maikelsono interferometru; (d) šviesolaidžių pritaikymas leidžia sukurti kompaktiškas ir tvirtas OKT sistemas

vėlinimo trukmes Furje OKT naudojamas arba spektrografas (Nassif ir kt., 2004), arba keičiamo spinduliuotės dažnio lazerinis šaltinis (Yun ir kt., 2003) spektriškai išskaidant interferencijos signalą be išilginio nuskaitymo.

OKT pagrįsta didelės raiškos, plataus dinaminio diapazono išsklaidytos atgaline kryptimi šviesos registracija. Kitaip nei ultragarso, šviesos greitis yra labai didelis. Taigi tiesiogiai išmatuoti lėkio trukmės skirtumą tarp kritusios į bandinį ir atspindėtos šviesos neįmanoma, todėl tam turi būti panaudojamos interferometrinės sistemos. Vienas iš galimų būdų yra mažo koherentiškumo interferometrija. Tokiu atveju audinio atspindėta šviesa yra lyginama su šviesa, kuri nusklinda tam tikrą žinomą nuotolį. Šis būdas pirmiausia buvo sukurtas atspindžiams šviesolaidžiuose ir optoelektronikoje matuoti. Mažo koherentiškumo šviesą spinduliuoja didelio skaisčio puslaidininkiniai šviestukai (angl. *superluminescent semiconductor diodes, SLD*) arba kiti šaltiniai, pavyzdžiui, kietakūniai lazeriai.

Interferometras, į kurį patenka plataus spektro šviesos šaltinio signalas, yra svarbi OKT sistemos dalis. Sklisdamas interferometru šviesos spindulys suskyla spindulio daliklyje ir kreipiamas dviem skirtingomis, atramine ir bandinio, atšakomis (5.1 pav.). Atspindėtas nuo



5.2 pav. Ti:safyro lazerio (veikiančio Kero lęšiu surištų modų (KLM) režimu) ir superliuminescencinio diodo optinių spektrų išėjimo (viršus), interferencijos signalų ir gaubtinių palyginimas. Lazerinio šaltinio optinis 260 nm signalo plotis įgalina pasiekti 1,5 μm išilginę skyrą, palyginus su 11,5 μm skyra, kurią užtikrina 32 nm spektrinio pločio SLD spinduliuotė. Adaptuota pagal (Drexler ir kt., 1999)

atraminio veidrodžio ir išsklaidytas nuo bandinio pluoštelis sugrižta atgal i interferometra ir sukuria interferencini koreliacinės saveikos nukreipiamas signala, kuris i detektoriu. Interferometrinio signalo registravimas galimas tik tada, kai atraminio signalo ir signalo iš bandinio sklidimo trukmės (arba grupiniai greičiai) beveik nesiskiria. Bandinio atspindinčios vietos, daugiau kritusios šviesos, sukuria didesnio intensyvumo interferencini signalą nei kitos. Krintančiu spinduliu atliekamas skersinis tiriamos bandinio srities skenavimas. Taip gaunamas dviejų matmenų duomenų masyvas, kurio dėka galima atkurti tiriamo bandinio vaizdą skersinio pjūvio plokštumoje. OKT atvaizdas gaunamas analizuojant užregistruotos šviesos intensyvuma tam tikrais algoritmais.

Šviesos signalo skleidimui ir

surinkimui pritaikius šviesolaidžius, padaroma kompaktiška ir tvirta OKT sistema, kurią galima panaudoti daugelyje medicininių prietaisų. Tačiau, nors šviesolaidžius naudoti labai patogu, tai sąlygoja griežtus sistemos efektyvumo apribojimus, nes juose gali vykti intensyvi sugertis, be to, dėl itin plačios spektrinės spinduliuotės srities, juose gali pasireikšti stipri dispersija, sąlygojanti žymų išilginės skyros sumažėjimą. Todėl šiems trūkumams sumažinti kuriami specialūs netiesinių optinių savybių šviesolaidžiai.

5.1.1. Skyra

Kitaip nei klasikinėje mikroskopijoje, bandinio OKT atvaizdo išilginį tikslumą lemia šaltinio spinduliuotės koherentiškumo ilgis (5.2 ir 5.3 pav.). Išilginio bandinio taškų pasiskirstymo funkcija, OKT matavimo metu apibrėžiama kaip interferometro išvado signalas, yra šviesos šaltinio spinduliuotės elektrinio lauko autokoreliacija. Spinduliuotės koherentiškumo ilgis yra autokoreliacijos lauko erdvinis plotis, o šio lauko gaubtinė atitinka spinduliuotės galios spektro Furje transformacijos rezultatą. Dėl mažo koherentiškumo, būdingo OKT signalui, jis greitai gęsta, jei spindulių lėkio trukmės interferometre nesutampa, tad bandinio erdvinės ypatybės, kurios pakeičia šviesos signalo lėkio trukmę, gali būti aptiktos didele skyra (Huang, 1991).

Detektuojamą signalą sudaro dvi dalys, kurių viena – dviejų interferuojančių spindulių intensyvumai, o kita – koreliacinės sąveikos funkcija. Tyrėjus domina būtent pastaroji, tad sukurta keletas metodų, kaip pašalinti interferencinę dalį (Schmitt, 1999).

Laikinės OKT atveju atraminės atšakos optinio kelio ilgis verčiamas laikiniu intervalu. Mažo koherentiškumo interferencijos savybė yra ta, kad interferencija, t. y. tamsių ir šviesių



5.3 pav. OKT vaizdų, gautų panaudojant (a) moduliuotos kokybės Ti:safyro lazerį ir (b) superliuminescencinį diodą, palyginimas. Viršutinio ląstelių sluoksnio ląstelių sienelių storis siekia 5 µm. Nesunku pastebėti, kad lazeriu gauto vaizdo kokybė kur kas geresnė. Adaptuota pagal (Bouma ir kt., 1995)

brūkšnių vora, matoma tik tada, kai atraminėje ir bandinio atšakose optinių kelių skirtumas yra ne šaltinio didesnis nei šviesos spinduliuotės koherentiškumo nuotolis. Bet kokia šviesa, kurios optinio kelio ilgio skirtumas didesnis, signalo interferometre nesukurs. Ši interferencija vadinama autokoreliacija simetriniame interferometre (abi atšakos pasižymi tokia pačia atspindžio geba) arba kryžmine koreliacija (angl. cross-correlation) bendruoju atveju. Tokio moduliuoto signalo gaubtinė kinta kaitaliojant kelio ilgio skirtumą, o gaubtinės maksimumas atitinka vienodus optinių kelių ilgius (5.4 pav.).

Dviejų iš dalies koherentiškų spindulių interferencija gali būti išreikšta kaip šviesos šaltinio spinduliuotės intensyvumo I_s funkcija:



5.4 pav. Laikinės skyros OKT ir dažninės (Furje) OKT interferencijos signalai

$$I = k_1 I_s + k_2 I_s + 2\sqrt{(k_1 I_s) \cdot (k_2 I_s)} \cdot \operatorname{Re} |G(\tau)|, \qquad (5.1)$$

čia $k_1 + k_2 < 1$ nurodo spindulio dalijimo santykį interferometre, o $G(\tau)$ – vadinamas kompleksine laikine koherencijos funkcija (kompleksiniu koherentiškumo rodikliu), nusakančia interferencijos signalo gaubtinę ir jo kaitą, priklausančią nuo atraminės atšakos nuskaitymo ar vėlinimo trukmės τ . Būtent šis parametras ir yra svarbus kuriant objekto atvaizdą.

Kompleksinė laikinė koherencijos funkcija $G(\tau)$ išreiškiama taip:

$$G(\tau) = E_r^*(t+\tau)E_{sig}(\tau) \tag{5.2}$$

čia τ yra spinduliuotės lėkio trukmės skirtumas atraminėje ir bandinio atšakose.

Pagal Vinerio-Chinčino (Wiener-Khintchine) teoremą $G(\tau)$ yra susijusi su šviesos šaltinio spektriniu galios tankiu S(v) šitaip:

$$G(\tau) = \int_{0}^{\infty} S(v) e^{-j2\pi\tau v} dv , \qquad (5.3)$$

o tai yra Furje transformacijos sąryšis.

Matome, kad šaltinio signalui, kurį moduliuoja atspindžio šviesa, būdingas Gauso erdvinis skirstinys, t. y.

$$S(v) = \frac{2\sqrt{\ln 2/\pi}}{\Delta v} e^{-4\ln 2\left(\frac{v-v_0}{\Delta v}\right)^2},$$
(5.4)

kur v_0 lygus signalo centriniam dažniui, o Δv atitinka šaltinio skleidžiamų dažnių spektro plotį pusės intensyvumo lygiu (FWHM), laikinė koherencijos funkcija bus lygi (Schmitt, 1999; Fercher ir kt., 1988):

$$G(\tau) = \mathrm{e}^{-\left(\frac{\pi\Delta\nu\tau}{2\sqrt{\ln 2}}\right)^2} \mathrm{e}^{-j2\pi\nu_0\tau} \,. \tag{5.5}$$

Koherencijos signalo gaubtinės maksimumas nusako objekto padėtį tiriamoje mikrostruktūroje, o jo amplitudė proporcinga bandinio mikrostruktūros sluoksnio atspindžio gebai.

Optinio signalo amplitudės moduliacija atsiranda dėl Doplerio efekto, kurį sukelia skenuojantis vienos interferometro atšakos įrenginys, o jo dažnį lemia skenavimo sparta. Šitaip keičiant optinio kelio ilgį vienoje interferometro atšakoje atliekamos dvi funkcijas – bandinio gylio skenavimas ir signalo Doplerio moduliacija. OKT atveju optinio signalo dažnis dėl Doplerio poslinkio išreiškiamas taip:

$$v_{Dop} = \frac{2 \cdot v_0 \cdot v_s}{c}, \qquad (5.6)$$

čia: v_s – skenavimo sparta, lygi optinio kelio pokyčiui, c – šviesos greitis.

Skersinė ir išilginė gaunamo vaizdo skyros optinės koherencijos metu yra tarpusavyje nepriklausomos (5.5 pav.). Jei OKT naudojamas įprastas (spinduliuotės erdvinis skirstinys nusakomas Gauso funkcija) šaltinis, jo spinduliuotės koherentiškumo nuotolis l_c nusakomas taip:

$$l_c = \frac{4\ln 2}{\pi} \cdot \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda}.$$
(5.7)

Tada išilginė (gylio) skyra, kuri atitinka koreliacinės funkcijos pusplotį pusės intensyvumo lygyje, disperguojančioje terpėje bus lygi:

$$\Delta z = \frac{l_c}{2n_g},\tag{5.8}$$

čia n_g yra grupinis rodiklis, apskaičiuojamas taip:

$$n_g = c \frac{dk}{d\omega} = n - \lambda \frac{dn}{d\lambda},$$
(5.9)

kur *n* yra fazės rodiklis arba įprastinis lūžio rodiklis. Realiose medžiagose ne tik *n*, bet ir n_g priklauso nuo bangos ilgio. Dėl šios priežasties interferencijos signalas išplinta, koherentiškumo nuotolis padidėja, tad išilginė skyra sumažėja.

Išilginę skyrą riboja naudojamo spindulio koherentiškumo ilgis, tačiau ji nepriklauso nuo spindulio sufokusavimo bei skaitmeninės apertūros. Ji yra atvirkščiai proporcinga naudojamo šviesos šaltinio bangos ilgių intervalui. Norint pasiekti didelę išilginę skyrą (padidinti prasiskverbimo gylį), reikia plataus spektrinio diapazono optinių šaltinių. Skyra taip pat yra pagerinama naudojant trumpesnes bangas, tačiau tokios bangos audinyje yra labiau išsklaidomos bei sugeriamos.

Kita vertus, skersinė (horizontalioji) OKT skyra priklauso nuo sufokusuotos dėmelės dydžio, panašiai kaip įprastos mikroskopijos atveju (Brezinski ir Fujimoto, 1999) ir yra lygi



$$\Delta x = \frac{4\lambda}{\pi} \cdot \frac{f}{d} \quad , \tag{5.10}$$

čia f yra židinio nuotolis, o d – spindulio dėmelės dydis ant objektyvo lęšio (spindulio skersmuo). Akivaizdu, kad, norint gauti didesnę skersinę skyrą, reikia glaudžiau fokusuoti šviesos pluoštelį, o tai galima atlikti tik didelės optinės apertūros prietaisu.

Konfokalinis parametras *b* (židinio fokusavimo zona) įprastai įvertinamas kaip dvigubas Reilėjaus nuotolis (z_R) (atstumas nuo židinio plokštumos, kuriame spindulio diametras padidėja $\sqrt{2}$ kartų) taip pat susijęs su skersine skyra:

5.5 pav. Išilginė ir skersinė OKT skyros

$$b = 2z_R = \pi \frac{\left(\Delta x\right)^2}{2\lambda}.$$
(5.11)

Taigi, didinant skersinę skyrą, fokusavimo zona siaurėja. Zonos dydis dažniausiai yra derinamas pagal norimą bandinio vaizdinimo gylį. Daugelio biologinių bandinių jis gali būti bent kelių milimetrų.

Dažninės OKT (angl. *frequency domain OCT*) atvejis: plačiajuostė interferencija registruojama spektriškai atskirtais detektoriais (koduojant optinį dažnį laike su spektro skenavimo galimybę turinčiu šaltiniu arba su disperguojančiu detektoriumi, pavyzdžiui, difrakcine gardele ar linijine detektorių gardele). Dėl Furje sąryšio tarp autokoreliacijos ir spektrinio galios tankio giluminio nuskaitymo vaizdą galima iš karto atkurti atlikus užregistruoto signalo spektro Furje transformaciją, netgi nekeičiant optinio kelio ilgio atraminėje atšakoje (t. y. nekeičiant veidrodžio padėties) (Schmitt, 1999; Fercher ir kt., 1995). Ši savybė įgalina gerokai padidinti vaizdų nuskaitymo spartą, o sumažinti nuostoliai vieno nuskaitymo metu pagerina signalo–triukšmo santykį proporcingai registruojančių elementų skaičiui. Kartu atliekama skirtingų dažnių detekcija apriboja bandinio nuskaitymo sritį, o spektrinis signalo plotis apibrėžia išilginę skyrą.

Erdviškai koduotos dažninės OKT (arba Furje OKT) atvejis: spektrinė informacija gaunama paskirstant skirtingus optinius dažnius detektorių juostelėje (tiesinėje CCD ar CMOS gardelėje) disperguojančiu elementu (5.6 pav. a). Taip vieno apšvietimo metu gali būti surinka visa informacija apie nuskaitomą gylį. Tačiau didelio signalo–triukšmo santykio pranašumas sumažėja dėl siauresnio linijinių detektorių darbinio dinaminio diapazono, palyginti su pavieniais fotojautriais diodais, kurių privalumas yra ~10 dB geresnis signalo–triukšmo santykis netgi skenuojant daug



5.6 pav. Spektrinis išskyrimas Furje OKT (a) ir sistemoje su derinamu šviesos šaltiniu (b). Sistemos elementų žymėjimai: Atr – atraminė atšaka, SD – spindulio daliklis, FD – fotodiodas, B – bandinys, DG – difrakcinė gardelė, SSA – skaitmeninio signalo apdorojimo irenginys

sparčiau. Šio metodo trūkumai pasireiškia dideliu signalo-triukšmo santykio mažėjimu, kuris proporcingas nuotoliui nuo nulinio vėlinimo linijos, ir su sinchronizacija susieto nuo gylio priklausomo jautrio sumažėjimu dėl detekcijos juostos pločio ribojimo. (Vienas pikselis detektuoja kvazistačiakampę optinės dažnių srities dalį vietoj vieno dažnio, tad Furje transformacija nėra tiksli). Be to, disperguojantys elementai spektroskopiniame detektoriuje dažniausiai nepaskirsto šviesos ant detektorių juostelės tolygiai pagal dažnius, bet pasižymi atvirkštine priklausomybe. Tad prieš apdorojimą, kuris negali atsižvelgti į lokalius (pikselių) spektrinio pločio skirtumus, signalas turi būti pertvarkomas, tačiau dėl to signalo kokybė dar labiau suprastėja.

Laike koduotos dažninės OKT atveju stengiamasi suderinti kai kuriuos įprastinės laikinės OKT ir erdviškai koduotos Furje OKT privalumus. Čia spektriniai komponentai yra koduojami ne spektriniu atskyrimu, bet laike. Spektras arba filtruojamas, arba generuojamas atskirais vienas po kito einančiais dažnio žingsniais ir rekonstruojamas prieš Furje transformaciją. Pritaikant derinamo dažnio šviesos šaltinį, pavyzdžiui, lazerį, optinė schema tampa paprastesnė (5.6 pav. b) nei erdviškai koduotos FTC atveju, bet nuskaitymo problemos sprendimas nuo laikinės OKT atraminės šakos perkeliamas į laike koduotos Furje OKT šviesos šaltinį. Privalumai pasireiškia patikrintoje

didelio signalo-triukšmo santykio detektavimo technologijoje, be to, derinami lazeriai užtikrina labai siaurą pradinį signalo dažnio (linijos) plotį sistemai dirbant labai dideliu dažniu (20-200 kHz). Trūkumus sąlygoja bangos ilgio netiesiškumas, pasireiškiantis linijos išplitimu, ypač esant dideliems dažniams, taip pat didelis jautris bandinio ar nuskaitymo geometrijos judesiams (mažesniems nei nanometrų eilės tarp gretimų dažnio žingsnių).

OKT signalo ir triukšmo santykis (STS) įvertinamas taip:

$$STS = 10\log(\frac{\eta P}{\hbar\omega NEB}), \qquad (5.12)$$

čia P – bandinio išsklaidyto šviesos signalo intensyvumas, *NEB* – signalo spektrinį plotį atitinkančio triukšmo intensyvumas, η - detektoriaus našumo koeficientas.

Įprastas OKT sistemų jautris siekia 100 dB, o tai reiškia, kad galima užregistruoti net labai silpnus (10⁻¹⁰ eilės) atspindėtus signalus. Spinduliuotės įsiskverbimo gylį riboja audinių sklaidos ir sugerties savybės. Naudojant infraraudonosios spektro srities bangas, įsiskverbimo gylį galima padidinti iki 2–3 mm, nes tokiam bangos ilgiui melanino ir hemoglobino sugertis bei sklaida yra palyginti menka. Priklausomai nuo to, kokią atvaizdo kokybę ir signalo–triukšmo santykį norima gauti, reikia taikyti 5–10 mW spinduliuotės galias, kad būtų gaunamas 250 x 250–500 x 500 pikselių vaizdas, kurio kitimo sparta – keli kadrai per sekundę (Fujimoto ir kt., 2000). Jei nereikia tokios spartos ar signalo kokybės, galia gali būti sumažinta.

5.1.2. Sparta

Tiek pat svarbus kaip ir skyra yra kitas OKT sistemos parametras – sparta. Vaizdo kadrų kitimo dažnį iš esmės lemia sparta, reikalinga nuskaityti tokiai optinio kelio ilgio atkarpai, kad registruojant signalą būtų gauta visa koreliacijos funkcija. Dėl to didžiausios pastangos buvo skirtos sparčiau registruoti spinduliuotės lėkio trukmės skirtumui (atraminio ir bandinio optinių kelių atšakose). Keletas tokių metodų apžvelgta straipsnyje (Brezinski ir Fujimoto, 1999).

Ankstyvosiose OKT sistemose optinio kelio ilgis atraminėje atšakoje buvo keičiamas judančiu veidrodžiu arba tam naudojamas galvanometras (Huang ir kt., 1991). Toks metodas įgalina pasiekti lėtesnę nei 2 kadrų per sekundę registravimo spartą. Antrosios kartos sistemose atraminės atšakos optinio kelio ilgiui keisti buvo panaudoti šviesolaidiniai plėstuvai ar pjezoelektriniai kristalai. Šios metodikos taikymą riboja tokie reiškiniai kaip poliarizuotų modų dispersija, histerezė, kristalo suardymas bei neretai naudojama labai aukšta elektros įtampa (Brezinski ir Fujimoto, 1999).

Pastaraisiais metais įdiegta nauja metodika, kurioje fazės vėlinimas kontroliuojamas gardele (Tearney ir kt., 1997). Kai atraminis spindulys krinta į gardelę, joje atliekama Furje transformacija. Išsklaidyta banga kreipiama į fazių nuožulniąją plokštumą, kurios parametrai tiesiškai priklauso nuo bangos ilgio. Kadangi tiesinė fazių nuožulnioji plokštuma dažnių erdvėje išreiškia grupinį vėlinimą laiko erdvėje, kai spinduliuotės signalas krinta į gardelę antrą kartą, atliekama atvirkštinė Furje transformacija. Šiuo būdu grupinio greičio vėlinimas gali būti skenuojamas pasukant veidrodėlį skirtingais kampais. Metodas įgalina pasiekti kadrų kitimo spartą tarp 4 ir 8 per sekundę. Be to, jis suteikia keletą kitų privalumų, t. y. grupinio greičio vėlinimas gali būti skenuojamas nepriklausomai nuo fazių vėlinimo, o grupinio greičio dispersija gali būti kaitaliojama nenaudojant papildomos prizmės (Brezinski ir Fujimoto, 1999).

5.1.3. OKT sistemos komponentai

Svarbiausi OKT sistemos komponentai gali būti suskirstyti į tris atskiras grupes: šviesos šaltinis, interferometras ir skenuojanti aparatūra.

Šviesos šaltinis turi atitikti tris pagrindinius reikalavimus: spinduliuoti artimosios IR spektro srities šviesą, turėti trumpą spinduliuotės koherentiškumo nuotolį ir būti didelio intensyvumo. Ilgesnės bangos labiau pageidaujamos todėl, kad didelių dažnių bangoms (pavyzdžiui, mėlynai šviesai) būdingas vidutinis sklaidos nuotolis yra trumpas. Kita vertus, bangas, kurių ilgis siekia 2 μm ir daugiau, intensyviai sugeria vanduo, tad dirbant biologinėse aplinkose tinkamiausias spinduliuotės bangų ilgių ruožas būtų nuo 1,2 μm iki 1,8 μm.

Kaip matyti iš (5.8) lygybės, kuo trumpesnis koherentiškumo nuotolis, tuo geresnė skyra gylio kryptimi. Kita vertus, didinant bangos ilgį ir siekiant išlaikyti tą pačią skyrą, bangų pluošto pusplotis didėja proporcingai antrajam laipsniui, tai matyti iš (5.7) lygybės. Normaliomis sąlygomis tokią papildomą šviesos pluoštelio plėtrą užtikrinti nelengva, nebent panaudojant moduliuotos kokybės lazerius. Paveikslėliuose 5.2 ir 5.3 pavaizduota šviesos šaltinio spinduliuotės pločio įtaka vaizdinimo skyrai.

Trečiasis šviesos šaltinio reikalavimas, t. y. didelis intensyvumas, įgalina pasiekti platų dinaminį diapazoną registruojant signalą. Dar svarbiau, kad ši savybė būtų būdinga plataus spektro šaltiniams. Tad labiausiai pageidautini būtų šviesos šaltiniai, kurių spinduliuotė sklistų plačiu kampu iš mažos zonos arba siauru kampu – iš didelės zonos.

Daugelis OKT sistemų, kurioms nekeliami itin dideli skyros reikalavimai, kaip mažo koherentiškumo šviesos šaltinius naudoja didelio skaisčio puslaidininkinius šviestukus (SLD – angl.

superluminescent diode) (5.7 pav.). SLD gaminami panašios struktūros kaip ir lazerių diodai, bet dažniausiai galinė jų briauna yra nuskelta kampu siekiant nuslopinti lazerinę šviesos generaciją. Pagrindinis SLD skirtumas nuo diodinių lazerių yra tas, kad didelio skaisčio šviestukai neturi grąžinamojo mechanizmo. Jų galuose nebūna atspindinčių paviršių (dėl to menka priverstinė emisija). Tokių prietaisų struktūros nesukuria osciliuojančių modų ir generuoja spindulį, kurį sukelia sustiprinta savaiminė emisija. Todėl jų emisijos spektras yra platesnis nei diodinių lazerių. SLD yra populiarūs šaltiniai, nes juos galima įsigyti įvairių bangos ilgių (800 nm, 1,3 μm, 1,5 μm), jie yra kompaktiški, jų didelis efektyvumas ir mažas triukšmų lygis. SLD koherentiškumo nuotolis siekia nuo vos kelių mikronų iki kelių dešimčių mikronų. Tačiau SLD spinduliuotės galia gana silpna (iki kelių mW), o tai neleidžia realiu laiku registruoti vaizdus didele sparta. Be to, SDL spinduliuojamo spektro puspločiai yra santykinai siauri (dešimtys nanometrų), tad gaunamų OKT vaizdų skyra siekia tik 10–15 mikronų.

Pastarųjų metų technologinė pažanga kuriant kietojo kūno trumpų impulsų lazerius skatina vis plačiau juos panaudoti OKT vaizdinimui mokslinių tyrimų metu. Femtosekundiniais kietojo kūno lazeriais generuojama derinamo dažnio, mažo koherentiškumo šviesa, o jos galios pakanka atlikti didelės spartos OKT vaizdinimą. Trumpų impulsų generavimo galimybė visoje bangos ilgių spektro nuo 0,7 µm iki 1,1 µm srityje buvo pasiekta su titano safyro (Ti:Al₂O₃) lazeriu. Ribotesnių derinimo galimybių srityse (apie 1,3 µm ir 1,5 µm) trumpų impulsų generavimas atliekamas atlitinkamai su chromo forsterito (Cr^{4+:}Mg₂SiO₄) lazeriu ir su Cr⁴⁺:YAG lazeriu. Naudojant 800 nm (Ti:Al₂O₃) bei 1,3 µm (Cr⁴⁺:Mg₂SiO₄) bangų lazerius, OKT vaizdų skyra pasiekė atitinkamai 1 µm ir 5 µm.



5.7 pav. Didelio skaisčio šviestuko (SLD) sandara

Pastaraisiais metais tyrinėjami kompaktiškesni ir patogesni šaltiniai, pavyzdžiui, superliuminescuojančių šviesolaidžių šaltiniai. Titano safyro lazeriai, įprastai naudojami darant daugiafotonės mikroskopijos tyrimus, yra didelio intensyvumo ir gali sukelti egzogeninių

fluorescencinių kontrastinių medžiagų dvifotonę sugertį ir fluorescenciją. OKT ir dvifotonės mikroskopijos derinys tinkamas siekiant gauti papildomus vaizdo duomenis naudojantis vienu optiniu šaltiniu.



5.8 pav. Kai kurių OKT sistemos interferometro konfigūracijų pavyzdžiai: (a) standartinis šviesolaidinis Maikelsono interferometras; (b) sukompensuotas interferometras, pagrįstas 3 x 3 šviesolaidiniu sujungimu; (c) sukompensuotas interferometras, pagrįstas 2 x 2 šviesolaidiniu sujungimu; (d) laisvos erdvės analogas (a) atvejui; (e) kompaktiškas linijinis interferometras; (f) laisvos erdvės Macho–Cenderio (Mach – Zehnder) interferometras. Adaptuota pagal (Schmitt, 1999)

Interferometras yra kiekvienos OKT sistemos svarbiausioji dalis. Dažniausiai tai Maikelsono interferometras su šviesolaidiniais priedais (5.8 pav. a), tačiau šios sistemos išvade neretai registruojami intensyvumo ir nuostoviosios srovės triukšmai, todėl šiems dėmenims iš signalo pašalinti naudojamos specialios kompensuojančios schemos (5.8 pav. b ir c).

Laiko skirtumas tarp krintančios ir atspindėtosios šviesos Maikelsono interferometru yra matuojamas šviesos pluoštelį kreipiant į pusiau skaidrią plokštelę P1, kuri padalija jį į du beveik vienodo intensyvumo pluoštelius (5.9 pav.). Vienas iš jų, atsispindėjęs nuo veidrodžio A1, vėl sugrįžta į plokštelę P1 ir atsispindi nuo jos stebėjimo kryptimi O. Antrasis pluoštelis krinta į veidrodį A2, atsispindi nuo jo ir vėl pereina plokštelę P1 sklisdamas kryptimi O. Kadangi abu pluošteliai (1 ir 2) susidaro iš vieno šviesos pluoštelio, jie yra koherentiniai ir gali interferuoti. Šviesos pluoštelis 2 pereina plokštelę P1 tris kartus, o pluoštelis 1 – vieną kartą. Todėl papildomam eigos skirtumui kompensuoti 1 pluoštelio kelyje pastatoma tokio pat storio plokštelė P2. Kai interferometro pečiai vienodi, 1 ir 2 pluoštelių optiniai keliai vienodi ir jų eigos skirtumas lygus nuliui. Jei keliai skiriasi, tada interferencinį vaizdą lemia oro tarpelis tarp veidrodžio A2 ir veidrodžio A1 menamojo atvaizdo A1'. Šviesos interferencija gali vykti tik tada, kai 1 ir 2 šviesos pluoštelių optinio kelio ilgių skirtumas sutampa su naudojamo šviesos šaltinio koherentiškumo

ilgiu. Interferencinis signalas, registruojamas interferometro išvade, elektroniškai nufiltruojamas, demoduliuojamas, pakeičiamas skaitmeniniu pavidalu ir išsaugomas laikmenoje.



5.9 pav. Maikelsono interferometro schema

5.1.4. OKT signalo registraciją ribojantys veiksniai

Grupinio rodiklio n_g priklausomybė (5.9) nuo bangos ilgio aprašo reikšmingą dispersijos reiškinių poveikį išilginei skyrai. Šviesos sklidimas disperguojančia terpe sąlygoja perteklinį fazės komponento $\Phi_{Disp}(v)$ indėlį signalų koreliacijos spektre. Šį papildomą fazinį narį galima užrašyti Teiloro eilute:

$$\Phi_{Disp}(v - v_0) = z \sum_{n=0}^{\infty} k^{(n)}(v_0) \frac{(v - v_0)^n}{n!},$$
(5.13)

kur

$$k^{(n)}(v_0) = \frac{d^n k}{d\omega^n} \bigg|_{v=v_0}$$
(5.14)

yra n-osios eilės dispersija, o z yra lėkio nuotolis disperguojančioje terpėje.

Kaip minėta, OKT tikslumas pagrįstas sistemos išilgine ir skersine skyra, o išilginę skyrą lemia šaltinio spinduliuotės dažnių juostos plotis. Jei šviesos šaltiniu pasirenkamas superliuminescuojantis diodas, jis paprastai leidžia pasiekti 13 µm skyrą gylio kryptimi (Huang ir kt., 1991). Modernesnės OKT sistemos, kuriose veikia moduliuotos kokybės lazeriniai šaltiniai su itin plačia spinduliuojamų bangų juosta, leidžia pasiekti apie 1 µm skyrą (Drexler ir kt., 1999; Bouma, ir kt., 1996).

Triukšmo šaltiniai OKT sistemose gali būti suskirstyti į dvi skirtingas kategorijas: sąlygojantys atsitiktinį triukšmą ir koherentinį triukšmą. Kadangi OKT sistema yra didelio jautrio ir plataus dinaminio diapazono, ją galima pasitelkti kone kvantinių reiškinių ribojamiems tyrimams. Tai pavyktų, jei būtų nuslopinti žemo dažnio 1/f ir šiluminis triukšmai. Triukšmo 1/f atveju šį tikslą padėtų įgyvendinti tinkamai parinkto Doplerio dažnio panaudojimas. Kruopštus varžinio (angl. *transimpedance*) stiprintuvo parinkimas padeda išvengti šiluminio triukšmo (Brezinski ir Fujimoto, 1999).

Tačiau dėmelių efektai (koherentinis triukšmas) gali gerokai pabloginti OKT vaizdo kokybę. Šiai problemai spręsti buvo pasitelkta keletas metodų, tarp jų ir poliarizacijos, dažnio ar erdvinis skirtingumas bei vaizdų skaitmeninis apdorojimas. Tačiau daugelis jų, kad sumažėtų triukšmas, verčia atsisakyti skyros. Efektyvus būdas koherentiniam triukšmui šalinti dar nėra sukurtas, tačiau, atrodo, kad skaitmeninis užregistruoto signalo apdorojimo algoritmas galėtų tam padėti. Kitaip, taikant kitus šio triukšmo mažinimo metodus, neišvengiamai tektų didinti šviesos šaltinio skaitinę apertūrą arba šviesos pluošto dažnių sritį.

5.2. OKT vaizdinimo metodikos

Įprastu atveju OKT vaizdai remiasi erdviniais pokyčiais, kurie pasireiškia koherentinės išsklaidytos šviesos plokštumoje. Tačiau bet kokia tiriamojo objekto fizikinė savybė, keičianti atspindėtos šviesos amplitudę, fazę ar poliarizaciją, galėtų suteikti diagnostiniu požiūriu svarbios informacijos. Tad OKT galima išskirti keturias vaizdinimo metodikas (Schmitt, 1999).

Poliarizacijai jautri OKT. Daugelis kūno audinių, ypač raumeninių, turi siūlinių darinių, dažniausiai sudarytų iš kolageno. Kai šie dariniai suformuoja savitą mikroskopinę audinio struktūrą, pasireiškia dvigubas šviesos lūžis. Poliarizacijai jautri OKT, registruojant biologinio bandinio atspindėtos šviesos intensyvumą gautame vaizde, išryškina šias audinių sritis. Maikelsono interferometru registruojant interferencijos signalo, kurį suformuoja sklaidančios terpės atspindėtas spindulys ir atraminės atšakos spindulys, amplitudę statmenos poliarizacijos padėtyse vienu metu, galima pamatuoti poliarizacijos pokyti, atsirandanti dėl optinio fazės vėlinimo tarp šviesos bangų, sklindančių dvigubo lūžio rodiklio terpėje išilgai greitosios ir lėtosios ašių. Ši interferencijos metu išsaugoma poliarizacijos informacija padeda nustatyti dvigubo šviesos lūžio sričių pasiskirstyma tiriamajame biologiniame audinyje. Atlikti tyrimai patvirtino šios metodinės krypties perspektyvumą, ypač tiriant ir diagnozuojant terminio poveikio sukeltus odos struktūros pokyčius (De Boer ir kt., 1998), taip pat vaizdinant rageną, tinklainę, dantų struktūrą ir atliekant endoskopinius tyrimus (Yamanari ir kt., 2006). Tiriant eksperimentinius gyvūnus pademonstruotos šios metodikos perspektyvos aptinkant raumeninio audinio mikrostruktūros pakitimus, vertinant su distrofija susijusius dvigubo lūžio interferencinio vaizdo pokyčius (Pasquesi ir kt., 2006). Šiuolaikinės poliarizacijai jautrios OKT sistemos leidžia tirti bandinius ex vivo ir in vivo registruojant vaizdus 10 kHz dažniu ribiniame 2 mm vaizdinimo gylyje (Fan ir kt., 2007).

Doplerio reiškiniu grįsta OKT. Nors lazeriniai šviesos šaltiniai jau ne vienus metus naudojami greičio matavimams, dėl lazerinei spinduliuotei būdingo ilgo koherentiškumo nuotolio interferencija tarp nepakitusios ir Doplerio poslinkį patyrusios atgaline kryptimi išsklaidytos šviesos dalies pasireiškia ilgame optinio kelio nuotolyje, o tai nulemia netikslų tiriamojo objekto vaizdinimą. Tačiau OKT būdinga ribota koherencijos sritis leidžia įveikti šią problemą, tad pasiekiamas didesnis judančių objektų atvaizdavimo tikslumas. Ši metodika taikoma, pavyzdžiui, vaizdinant kraujo tėkmę (5.10 pav.).

Tradicine optine koherentine tomografija registruojama ir atvaizduojama tik atspindėtos nuo bandinio spinduliuotės amplitudė. Doplerio OKT yra taikoma skysčių tekėjimo odos, akies tinklainės, širdies kraujagyslėmis ir kt. registravimui. Šis metodas įgalina skaitmeniniu būdu analizuoti interferencijos signalą, susidarantį šviesai atsispindint nuo bandinyje esančio judančio sklaidančio objekto (pavyzdžiui, skysčio), ir nustatyti to skysčio judėjimo sukeltą Doplerio dažnio sąlygotą signalo pokytį. OKT elektronikos įtaiso detektavimo filtrais registruojamų bangų juostos pločiai atlieka signalo fragmentavimo funkciją, nes registruojami tik tie tėkmės greičiai, kurių dažniai patenka į šių juostų sritį. Jei tėkmės pobūdis nežinomas, detekcijos filtro centrinis dažnis gali būti paslenkamas tam, kad atvaizduotų visų bandinyje esančių tėkmių greičius.



5.10 pav. (a) Žiurkėno odos OKT vaizdas, atkurtas matuojant atspindėto signalo amplitudę. Matyti visa odos struktūra. (b) Tos pačios odos vaizdas, gautas Doplerio optinės koherentinės tomografijos metodu. Matyti trys kraujagyslės

Audinių sugerties OKT. Dviejų signalų koreliacinės sąveikos išraiška I_c gali būti užrašyta tokiu pavidalu:

$$I_{c}(v) = E_{r}^{*}(v)E_{sig}(v)$$
(5.15)

$$= E_r^{*}(v)E_r(v)|A(v)|e^{-j\Phi(v)}$$
(5.16)

$$= S(\nu)|A(\nu)|e^{-j\Phi(\nu)}$$
(5.17)

čia S(v) žymi šaltinio spektrą, A(v) ir $\Phi(v)$ – spektro amplitudę ir fazę.

Kadangi A(v) tiesiogiai priklauso nuo bandinio sugerties koeficiento, šis sąryšis sukuria prielaidas iš koreliacinės sąveikos signalo gauti informaciją apie bandinio sugerties savybes. Iš tiesų taip ir daroma, be to, galima pademonstruoti, kad tam tikromis sąlygomis sugerties spektras yra proporcingas normuotų po Furje transformacijos koreliacinės sąveikos signalų, pamatuotų dviejuose skirtinguose terpės gyliuose, logaritmų santykiui.

OKT elastografija (elastinis vaizdinimas) apima audinio viduje esančių lokalių standumo pokyčių neinvazinius matavimus. Tai galima atlikti todėl, kad OKT yra jautri bandinio poslinkiams vaizdinimo metu. Pasinaudojus šia OKT savybe, galima gauti informacijos apie bandinyje atsirandančias mikrodeformacijas tuo metu, kai jis paveikiamas išorinėmis spaudimo jėgomis. Tai gali suteikti itin svarbios diagnostinės informacijos, ypač vertinant žaizdų gijimo vyksmus.

5.2.1. Sparčioji OKT

Trumpus impulsus generuojantys kietojo kūno lazeriai ne tik kuria plataus spektro spinduliuotę, reikalingą didelės skyros OKT vaizdams gauti, bet jų impulsų galios pakanka tam, kad būtų galima paspartinti vaizdų gavimą realaus laiko režimu. Didesnės galios šviesos impulsai reikalingi siekiant palaikyti pakankamą signalo-triukšmų santykį, kai bandinys nuskaitomas didele sparta. Didinant vaizdų registravimo spartą, sunku užtikrinti reikiamą atraminį spindulį atspindinčio veidrodžio poslinkį. Dėl šios techninės problemos išilginio skenavimo dažnis apribojamas iki maždaug 100 Hz, priklausomai nuo veidrodžio dydžio ir registruojančio galvanometro parametrų. Tam išspręsti pasinaudojama besisukančiais veidrodiniais kubais, pjezoelektriniais moduliatoriais arba daugkartinio perėjimo optiniais rezonatoriais. OKT pritaikytas ir optinis vėlinimas, kuris pagrįstas principais, taikomais keičiant femtosekundinių impulsų formą. Vėlinimo linija gardele spektriškai išskaido spindulį atraminėje atšakoje. Dispergavęs spindulys lęšiu sufokusuojamas ant besisukančio veidrodžio, kuris uždėtas ant galvanometro. Įdėtas lęšio Furje transformacijos plokštumoje veidrodis suteikia šviesai nuo bangos ilgio priklausantį fazės poslinkį. Vėliau, šviesos spinduliui sugrįžus į interferometrą, šis poslinkis tampa ekvivalentiškas lėkio trukmės vėlinimui laikinėje erdvėje. Pritaikius OKT greitus rezonansinius galvanometrus, skenavimo dažnius galima padidinti iki 8 kHz nekeičiant kelių milimetrų išilginio skenavimo srities ilgio. Priklausomai nuo vaizdo taškų – pikselių skaičiaus (išilginių skenavimų skaičiaus viename vaizde), toks dažnis suteikia galimybę gauti video vaizdą (30 kadrų per sekundę). Panaudojant skersinį skenavimą, šiuolaikinėmis OKT sistemomis galima gauti trimačius vaizdus. Šį nuskaitymą atliekant su didesnės skaitinės apertūros objektyvo lęšiais, pasiekiama didelė skersinė skyra. Toks metodas pavadintas optine koherentine mikroskopija.

5.3. Skenavimo schemos

Fokusuojant šviesos spindulį į tašką bandinio paviršiuje testo metu ir rekombinuojant atspindėtą šviesą su atramine, gaunama interferograma su bandinio informacija, atitinkančia vieną išilginį skenavimą (tik z ašis). Bandinio skenavimas gali būti atliekamas arba keičiant šviesos spindulio padėtį, arba judinant bandinį po šviesos spinduliu. Skenavimas, prioritetu pasirinkus gylį, atliekamas greitai keičiant spindulio optinį vėlinimą atraminėje atšakoje ir sukaupiant vieno pilno išilginio nuskaitymo duomenis prieš tai, kol pakeičiama nuskaitančio spindulio padėtis bandinio paviršiuje. Alternatyvus OKT vaizdų atkūrimas atliekamas prioritetu pasirenkant skersinį skenavimą. Šis būdas atitinka optinį sluoksniavimą, atliekamą konfokalinės ar dvifotonės mikroskopijos metu. Linijinis skenavimas sukuria dvimatį duomenų rinkinį, kuris atitinka bandinio išilginio pjūvio vaizdą (x-z ašinis nuskaitymas), o ploto skenavimas registruojant dvimačius vaizdus ir keičiant atraminio veidrodžio padėtį leidžia surinkti trimatį duomenų rinkinį, atitinkantį tūrinį bandinio skenavimą (x-y-z), dar vadinamą viso lauko (angl. *full field*) OKT metodika.

Pavienio taško (konfokalinė) OKT

Sistemos, pagrįstos vieno taško (konfokalinė) ar slenkančio taško (angl. *flying point*) laikine OKT, privalo nuskaityti bandinį dviem išilginėmis kryptimis ir atkurti trimatį vaizdą, gaunant gylio informaciją iš ribojamo koherencijos signalo, registruojamo atliekant išilginį nuskaitymą atraminėje atšakoje (5.11 pav.). Dvimatis skersinis nuskaitymas atliekamas elektromechaniškai judinant bandinį ant transliacinio padėklo (Fercher ir kt., 1995) ir naudojant novatorišką mikroelektromechaninę nuskaitymo sistemą (Yeow ir kt., 2004).



5.11 pav. Pavienio taško OKT schema. FI – signalo filtravimo įrenginys, DM – signalo demoduliavimo įrenginys, A/S – analoginio/skaitmeninio signalo keitiklis

Lygiagrečioji OKT

Pagal lygiagrečiosios OKT metodą taikomos kameros su krūvius kaupiančiu įtaisu (CCD), kai apšviečiamas visas bandinio laukas ir plokštuminis paviršiaus vaizdas gaunamas nenaudojant elektromechaninio skersinio skenavimo. Stumdant atraminį veidrodį ir registruojant gretimus plokštuminius vaizdus galima atkurti trimatį vaizdą. Trimatę OKT, naudojant CCD kameras, pademonstravo pakopinės fazės metodika (Dunsby ir kt., 2003), geometrinio fazės poslinkio taikymas su Linniko interferometru (Roy ir kt., 2002), dviejų CCD kamerų panaudojimas ir detektavimas heterodynu (Akiba ir kt., 2003) bei Linniko interferometro su osciliuojančiu atraminiu veidrodžiu ir išilginio poslinkio padėklu panaudojimas (Dubois ir kt., 2002). Svarbus reikalavimas, norint CCD kameras panaudoti OCT vaizdams registruoti, yra arba labai didelė sparta, arba informacinio signalo generacijos ribojimas nuo judančio atraminio veidrodžio tam, kad būtų spėta užregistruoti didelio dažnio informacinį OKT signalą.

Pažangių (smart) detektorių gardelė lygiagrečiajai laikinei OKT

Dvimatė pažangių detektorių gardelė, sukonstruota iš 2 µm komplementarios metalo oksido–puslaidininkio (CMOS) technologijos įtaisų, buvo panaudota pilnojo lauko OKT sistemai demonstruoti (Bourquin ir kt., 2001). Sukurtoje nesudėtingoje optinėje schemoje (5.12 pav.) 58 x 58 pikselių dydžio pažangių detektorių gardelėje kiekvienas pikselis veikė kaip atskiras fotodiodas ir turėjo savą elektroninį signalo demoduliacijos įtaisą.

Lygiagretaus detektavimo spektrinės OKT metodas buvo išplėtotas siekiant gauti išilginio pjūvio vaizdus iš vieno registruoto vaizdo nenaudojant išilginio ar skersinio skenavimo (Zuluaga ir Richards-Kortum, 1999; Endo ir kt., 2005; Grajciar ir kt., 2005; Yasuno ir kt., 2006). Vėliau, panaudojus linijinį apšvietimą ir dvimatę CCD, buvo pamatuoti trimačiai (3–D) atvaizdai (Endo ir kt., 2005), realiu laiku *in vivo* vaizdintos žmogaus akies struktūros (Grajciar ir kt., 2005), ir atlikti dermatologiniai tyrimai (Yasuno ir kt., 2006). OKT vaizdų suformavimas reikalauja tikslaus išilginio skenavimo duomenų atvaizdavimo ir jų interpoliavimo iš banginės erdvės į *k*–erdvę bei Furje transformacijos taikymo. Žinoma, kad Furje OKT turi signalo pastovųjį dėmenį, susieja artefaktus ir patiria staigų signalo ir triukšmo santykio sumažėjimą, kuris proporcingas nuotoliui nuo nulinio vėlinimo linijos ir nuo gyliui proporcingo jautrio *sinc*–tipo sumažėjimo, pasireiškiančio dėl riboto detekcijos linijos pločio. Siekiant išvengti šių artefaktų, spektrinės OKT metodas reikalauja keleto spektrinių interferencijos signalų su paslinkta faze (Wojtkowski ir kt., 2002; Leitgeb ir kt., 2003). Biologinių bandinių vaizdinimo *in vivo* fazių skirtumo tarp užregistruotų vaizdo kadrų tikslumas nėra labai patikimas dėl bandinio judesių.

Lygiagretaus detektavimo laikinės OKT metodas buvo išplėtotas siekiant gauti skersinius (Lebec ir kt., 1998; Dubois ir kt., 2002; Grieve ir kt., 2005; Dubois ir kt., 2006; Karamata ir kt., 2004) ir išilginius (Zeylikovich ir kt., 1998; Watanabe ir kt., 2006 a; Watanabe Y. ir kt., 2006 b) bandinių pjūvių vaizdus. Laikinės OKT vaizdų apskaičiavimas atliekamas pagal interferencijos vaizdus, tad išvengiama standartinių Furje OKT bėdų, kurias sąlygoja atsirandantys veidrodiniai atvaizdai ir mažėjantis signalo ir triukšmo santykis plečiant skenuojamo gylio ribas. Kadangi



5.12 pav. Pilnojo lauko OKT optinė schema. Optiniai elementai – superliuminescencinis diodas, 50 proc. spindulio daliklis, CMOS technologijos skaitmeninio signalo apdorojimo kamera, veikianti kaip dvimatė detektorių gardelė. Naudojant OKT gylio nuskaitymo galimybę, sukuriama neinvazinė trimačio vaizdo atkūrimo sistema

pilnojo lauko OKT įgalina registruoti skersinius plokštumos vaizdus, norint registruoti išilginio pjūvio vaizdus, reikia išilginio mechaninio skenavimo įtaiso. Norint su 2–D kamera gauti apšviesto bandinio interferencijos vaizdą su gylio skyra, išilginėje–skersinėje lygiagretaus (ALP) detektavimo schemoje kaip atraminis spindulys panaudojamas pirmasis difragavusios šviesos maksimumas, sukuriantis pastovų erdvinį optinį vėlinimą, o bandinys zonduojamas linijinio apšvietimo šviesa (Zeylikovich ir kt., 1998). Taikant trijų žingsnių fazės poslinkio metodiką, 10 kadrų/s OKT vaizdinimas *in vivo* pademonstruotas su InGaAs skaitmenine kamera, registruojančia 30 kadrų/s (Watanabe ir kt., 2006 a). Žmogaus pirštų 4,80 x 2,45 mm² (išilgai–skersai) srities OKT atvaizdai buvo pamatuoti 90 dB jautriu. Panaudojant itin sparčią CMOS technologijos kamerą, dviejų gretimų vaizdų skaičiavimo būdu gauti 512 x 512 pikselių OKT vaizdai iš 5,8 x 2,0 mm² (išilgai–skersai) srities 1500 kadrų/s sparta (Watanabe Y. ir kt., 2006 b). Išilginės ir skersinės vaizdinimo ribos buvo apribotos vaizdinimo lęšių parametrų ir Littrow kampo tarp statmens difrakcinei gardelei ir pirmosios difragavusios šviesos eilės pluoštelio (orientavus šviesos šaltinį Littrow kampu gardelės atžvilgiu, pirmojo difrakcijos maksimumo pluoštelis nukreipiamas atgal kritusio spindulio kryptimi).

Tokioje sistemoje (5.13 pav.) (Watanabe ir kt., 2006 c) kolimuotas superliuminescuojančio diodo ($\lambda_0 = 1,31 \ \mu\text{m}$, FWHM – $\Delta\lambda=30 \ \text{nm}$, koherentiškumo ilgis $l_c = 50,3 \ \mu\text{m}$) šviesos spindulys dalijamas į atraminę ir bandinio atšakas nepoliarizuojančiu kubiniu spindulio dalikliu (20 mm dydžio). Cilindrinis lęšis ($f = 50 \ \text{mm}$), skirtas bandinio apšvietimui linijiniu spinduliu, buvo įdėtas bandinio atšakoje. Atspindinti difrakcinė gardelė įdėta atraminėje atšakoje ir orientuota Littrow kampu. Gardelės difrakcijos lygtis:

$$p(\sin\alpha + \sin\beta) = n\lambda \tag{5.18}$$

čia *p* yra nuotolis tarp rėžių (1/300 mm); λ – difragavusios bangos ilgis; α ir β yra spindulio kritimo ir difrakcijos kampai, o *n* žymi difrakcijos eilę. Kadangi Littrow konfigūracijos kritimo ir difrakcijos kampai sutampa, Littrow kampas θ apibrėžiamas taip:

$$\theta = \sin^{-1}(n\lambda_0 / 2p) \tag{5.19}$$

Nors centrinio bangos ilgio pluoštelis atgal sklinda tuo pačiu kritimo keliu, kitų bangos ilgių (λ) spinduliuotė nuo jo nukrypsta, ir jos difrakcijos kampus galima apskaičiuoti taip:

$$\beta = \sin^{-1}(n\lambda / p - \sin \theta) \tag{5.20}$$

Išsklaidytas bandinio atgaline kryptimi spindulys ir gardelėje difragavęs spindulys buvo vaizdinami InGaAs kamera (256 (H) x 320 (V) pikseliai, 25 μ m pikselio dydis, aktyvus plotas 6,4 x 8,0 mm, 12 bitų skyra, kadrų skaičius iki 60 per s) panaudojant optinį didinimo lęšį (0,5–2 x, židinio nuotolis – 90 mm). Kameros horizontalūs pikseliai (N = 256) ir vertikalūs pikseliai (M = 320) registravo atitinkamai išilginius ir skersinius nuotolius bandinyje. Difrakcinės gardelės sąlygotas vaizdinimo gylis, ΔZ , lygus:

$$\Delta Z = d \, \tan \theta, \tag{5.21}$$

čia d – šviesos spindulio skersmuo. Kadangi skersinis nuotolis ΔX matuojamas kameros vertikaliu pikseliu, išilginis nuotolis ΔY atitinka $N\Delta X / M$. Tad sąryšis tarp ΔZ ir ΔX išreiškiamas:

$$\Delta Z = \Delta Y \tan \theta = \frac{N}{M} \Delta X \tan \theta .$$
 (5.22)

Remiantis vaizdinimo teorema, kai išilginis kontūras, Δl , yra vertinamas dviem pikseliais, maksimali vaizdinimo gylio zona ore, ΔZ_{maks} , išreiškiama:

$$\Delta Z_{\text{maks}} = \Delta l \cdot \frac{N}{2} = \frac{l_c}{2} \cdot \frac{N}{2}.$$
 (5.23)

Kadangi $l_c = 50,3 \ \mu\text{m}$ ir N = 256, sistemos $\Delta Z_{\text{maks}} = 3,2 \ \text{mm}$. Jei tikras kameros vaizdinimo gylis yra didesnis nei ΔZ_{maks} , išilginė skyra priklauso nuo vaizdinimo gylio ir pikselių skaičiaus.

Išilginės-skersinės interferencijos atvaizdas, I, gali būti išreiškiamas taip:

$$I(x,z) = I_{sig} + I_{atr} + 2[I_{atr}I_s(R_{sig}(x,z)^*|\gamma(z)|)]^{\frac{1}{2}}\cos\varphi,$$
(5.24)

čia I_{sig} , I_{atr} ir I_s yra bandinio, atraminio spindulio ir kritusio spindulio intensyvumai, R_{sig} – bandinio atspindžio gebos skirstinys, $\gamma(z)$ – moduliacijos amplitudė, kurią lemia šviesos šaltinio spinduliuotės koherentiškumo lygis, φ – bandinio ir atraminio spindulių pluoštelių fazių skirtumas, o ženklas * žymi konvoliucijos operatorių.

Kadangi kameros išvade vaizdas susideda iš neinterferencinio signalo, interferencinio signalo amplitudės ir fazinio nario, OKT vaizdui atkurti reikia daugiau nei trijų paslinktos fazės interferencijos vaizdų. Registruojant biologinių bandinių OKT vaizdus *in vivo*, dėl to, kad bandiniai juda, reikia vaizdinti didele sparta. Vaizdinant biologinius bandinius neinterferuojančios šviesos indėlis dažnai yra gerokai stipresnis nei interferencijos signalas. Todėl labai svarbu pašalinti neinterferuojančią šviesą parenkant minimalų vaizdų kadrų skaičių. Kai dviejų interferencijos vaizdų fazės skirtumas sukuriamas judinant bandinį, dviejų užregistruotų vaizdų I_1 ir I_2 skirtumo kvadrato vertė, S, gali būti apskaičiuota taip:

$$S = (I_1 - I_2)^2 = 4[I_{atr}I_s(R_{sig}(x,z)^*|\gamma(z)|)](\cos\varphi_1 - \cos\varphi_2)^2.$$
(5.25)

Neutralus f	iltras	SLD			
Difrakcinė gardelė ⊿Z			Kolimuojantis lęšis		
				InGaAs kamera	
	SD CL		Optinio didinimo lęšis	N=256 pikseliai Išilginis: ∆z	
				Kameros plotas	M=320 pikselių Skersinis: ∆x
			Bandinys		

5.13 pav. Išilginės–skersinės lygiagrečios laikinės OKT principinė schema. SLD – superliuminescuojantis diodas, SD – spindulio daliklis, CL – cilindrinis lęšis. Adaptuota pagal (Watanabe ir kt., 2006 c)

Nors apskaičiuotame rezultate yra fazinis narys, liekamosios interferencijos juostos nematomos, nes biologinių audinių OKT vaizdams būdingas taškinis triukšmas. Tad gautas vaizdas *S* atspindi bandinio atspindžio gebą $R_{sig}(x,z)$, atitinkančią OKT vaizdą, tačiau su triukšmu. Efektyvus būdas norint sumažinti fazinį ir taškinį triukšmą yra vaizdų vidurkio apskaičiavimo procedūra (Grieve ir kt., 2005; Dubois ir kt., 2006; Zeylikovich ir kt., 1998).

5.4. Gilesnių audinių sluoksnių vaizdinimas

OKT yra lankstus ir adaptyvus vaizdinimo metodas. OKT sistemą sudaro atskiri optiniai ir elektronikos elementai, tad galima pritaikyti daug įvairių optinių prietaisų, kad ją būtų galima panaudoti ir vaizdų iš vidinių audinių registracijai. Konstruojant tokias OKT sistemas dažniausiai panaudojami šviesolaidžiai, kurių atskiromis optinėmis gyslomis galima kreipti šviesą į audinį ir surinkti atspindėtus spindulius. OKT sistemos dalis nesudėtinga įmontuoti į chirurginius mikroskopus, oftalmologinius plyšinius mikroskopus, ranka valdomus zondus, kateterius.

Ribinis bandinio gylis, kurį dar galima atvaizduoti, yra sąlygojamas bandinio sugerties bei atspindžio savybių. Šis gylis kinta nuo kelių dešimčių milimetrų skaidriuose audiniuose (pavyzdžiui, akyje) iki mažiau nei trijų milimetrų stipriai sklaidančiuose audiniuose (pavyzdžiui, odoje).

Siekiant vaizdinti giliai esančius sklaidančius audinius, ieškoma naujų technologinių sprendimų. Specialiai sukonstruotu OKT kateteriu galima tirti vidinių sistemų, pavyzdžiui, virškinamojo trakto, audinius. Jis gali būti panaudotas kartu su endoskopu, įterpus 1 mm skersmens kateterį į endoskopo vamzdį, ir šitaip atliekant įprastą vaizdinę apžiūrą bei OKT vaizdų registraciją

tuo pat metu. Stengiantis kuo mažiau pažeisti sveikus audinius operacijų metu, panaudojami laparoskopai. Tai ilgi, ploni ir tvirti prietaisai, kuriais taip pat galima gauti pilvo ertmės vaizdus ir juos išsaugoti. OKT vaizdams gauti reikalingas spindulys sklinda laparoskopo optiniais elementais. Giliai į audinius galima įsiskverbti naudojant adatinius zondus su šviesolaidine optika. Mažytės (400 µm skersmens) adatos, kuriose įmontuota plona šviesolaidinė skaidula ir mikrooptikos elementai, įterpiamos net į standžius audinius ir, jas sukant apie ašį, gaunami OKT vaizdai. Naujausia OKT nuskaitančio spindulio mechanizmo minimizavimo technologija – mikroelektrooptomechaninės sistemos (MEOMS).

5.5. OKT taikymo sritys

Optinė koherentinė tomografija dažniausiai pasitelkiama tose biomedicinos srityse, kur alternatyvios metodikos gali sukelti pavojų arba nesuteikia norimos informacijos, be to, ji lengvai pritaikoma ir mikrochirurginių operacijų metu (Brezinski ir Fujimoto, 1999).

OKT : 4 – 20 μm



AD (30 MHz) Ultragarsas: >110 μm

5.14 pav. Kraujagyslės vaizdai, gauti OKT sistema ir ultragarso aparatu. Adaptuota pagal (Brezinski ir Fujimoto, 1999)

Daugeliu atveju, pavyzdžiui, atliekant smegenų tyrimus, įprasti biopsijos metodai gali būti itin pavojingi. Konkuruojančių technologijų pritaikymo galimybės taip pat labai ribotos dėl mažos skyros ar nepakankamo gaunamų duomenų diagnostinio selektyvumo (daug klaidingai neigiamų atvejų). Galima aptikti ankstyvas daugelio tinklainės ligų stadijas, kai dar galimas konservatyvus gydymas, tačiau akies struktūros tyrimus reikia atlikti mikrometrine skyra, kurios negali užtikrinti joks kitas metodas, išskyrus OKT. Kartais pasitaiko ir klinikinių atvejų, kai dėl neraiškaus ligos pobūdžio, net ir atliekant kryptingus diagnostinius tyrimus, yra didelė tikimybė jos neaptikti, o tai didina klaidingą neigiamų atvejų skaičių.

Pagrindinės OKT taikymo sritys:

- Audinių stebėjimas, kai tradiciniai chirurginiai metodai (biopsija) yra pavojingi arba neįmanomi;
- Pagalba chirurginių bei mikrochirurginių operacijų metu orientuojantis audinių struktūrose;

• Audinių vaizdo atkūrimas chirurginio šalinimo metu siekiant sumažinti klaidų tikimybę, kai pažeisti ar piktybinių navikų apimti audiniai yra aptinkami imant mėginius.

	OKT	Ultragarsas	Magnetinis rezonansas	Fluoroskopija	Angioskopija
		6			
Skyra (µm)	1 – 15	80 - 120	80 - 300	100 - 200	< 200
Zondo dydis (µm)	140	700	Nenaudojamas	Nenaudojamas	800
Jonizuojanti spinduliuotė	-	-	-	Galimas žalingas poveikis	-

5.1 lentelė. Širdies vainikinių arterijų tyrimo būdų palyginimas

5.5.1.Vystymosi biologija

OKT metodu galima atlikti didelės skyros ir spartos organizmo funkcinio ir morfologinio vystymosi vaizdinimą, netgi ląstelinio lygmens. Jis įgalina neinvazyviai stebėti tokius ląstelių gyvybinius procesus kaip mitozė ir migracija. Vaizdinimo tyrimai, atlikti su varlių buožgalviais, žuvimis ir pelėmis, pademonstravo, kad vaizduose gana gerai matyti gemalų ir kiaušinėlių vidinė morfologinė struktūra. Jei dėl bandinio dydžio ar šešėlių negalima įžvelgti struktūros iš vienos pusės, bandinys pasukamas ir vėl skenuojama toje pačioje plokštumoje. Palyginamieji tyrimai, atlikti su histologiniais biologinių preparatų vaizdais, patvirtina tikslų audinių struktūrų atspindėjimą OKT vaizduose. Didžiulį taikomąjį potencialą turi galimybė pakartotinai registruojant vaizdus atlikti funkcinės genomikos, kuri susieja genetiką su augančio organizmo funkcijomis ir morfologija, tyrimus.

Kadangi vaizdo kontrastui gauti OKT remiasi būdingais tam tikro audinio šviesos sklaidos pokyčiais, išoriniai kontrastą didinantys ar fluorescuojantys junginiai yra nereikalingi. Tai leidžia išlaikyti audinį arba stebimą organizmą gyvybingą ilgų nepertraukiamų stebėjimų metu. Taip buvo atlikti žuvų embrionų vystymosi tyrimai nuo pat ikrų apvaisinimo iki mailiaus išsiritimo, nesukėlę jokių gyvybingumo ar vystymosi sutrikimų. Toks būdas, atkuriant kelių milimetrų gylyje esančių struktūrų vaizdus iš užregistruotų subtilių išsklaidytos šviesos pokyčių, reikšmingai papildo tradicinę šviesos mikroskopiją.

Gyvų audinių vaizdų registravimas, ypač didesnių organizmų ir medicininės diagnostikos tikslais, turi būti atliekamas labai sparčiai, kad iš jų būtų galima pašalinti organizmo judėjimo



5.15 pav. Afrikinės varlės buožgalvio ląstelių tomograma. Skyra 1μm x 3μm (ašinė x skersinė), 1700 x 1000 taškų. Matyti ląstelių morfologija, uoslės sistema (OT). Rodyklėmis parodytas dviejų ląstelių dalijimasis. Brūkšnelis nuotraukoje atitinka 100 μm

sukeltus artefaktus. Funkcinės didelės spartos OKT vaizdinimo metu *in vivo* iš realiu laiku užregistruotų vaizdų gautos informacijos charakterizuojamos organų sistemos ar organizmo funkcijų savybės. Normalaus ir nenormalaus širdies vystymosi tyrimai neretai buvo apriboti dėl nesugebėjimo įvertinti širdies ir kraujagyslių sistemos veiklos nepažeidžiant organizmo. OKT galimybės buvo pademonstruotos pritaikius ją besivystančios afrikinės varlės (Xenopus laevis) širdies sistemos veiklos ir sandaros tyrimuose, atliktuose su didele skyra. Gautuose vaizduose puikiai matėsi gyvos širdies kamerų morfologinė sandara. Vaizdo atkūrimo sparta buvo gana gera, kad būtų galima užregistruoti vaizdą bet kuriuo širdies darbo ciklo momentu. Sudėjus gautus vaizdus galima sukurti video vaizdą, dinamiškai atspindintį besivystančios širdies funkcijas. Tad OKT, kitaip nei kompiuterinė tomografija ar magnetinis rezonansas, suteikia galimybę gauti didelės spartos vaizdus, pavyzdžiui, tokios širdies veiklos kaip skilveliu susitraukinėjimas, ir atlikti jų kiekybinius vertinimus.

5.5.2. Ląstelių stebėjimas

Nors taikant OKT galima tirti gyvų audinių morfologiją, dažniausiai tokių stebėjimų raiška yra apie 10–15 µm, ji nėra pakankama, kad tokiuose vaizduose išryškėtų ląstelių struktūros. Galimybė OKT nustatyti ląstelių mitotinį aktyvumą, vertinti branduolio ir citoplazmos santykį ar tirti besivystančio organizmo ląstelių migraciją turi didžiulę reikšmę ne tik ląstelių ir vystymosi biologijai, bet ir medicinos bei chirurgijos sritims siekiant kuo anksčiau diagnozuoti vėžines ląsteles, aptikti metastazių ląstelinius darinius.

Ląstelių stebėjimui OKT sistemose naudojamas Ti:safyro lazeris, nes su SLD spinduliuote negaunama reikiamos raiškos. Tokio lazerio skleidžiamos spinduliuotės spektras yra nuo 650 nm iki 1100 nm. Efektyviausias lazerio veikos režimas, kai spinduliuotės bangos ilgis 800 nm.

OKT galimybėms atskleisti atlikti tyrimai su afrikinių varlių buožgalviais (5.15 pav.). Šio vystymosi biologijos įprasto modelinio organizmo ankstyvose augimo stadijose daugelis ląstelių labai sparčiai dauginasi ir juda. Todėl OKT metodu galima gauti didelės raiškos dinamiškus ląstelių vaizdus ar net trimačius vaizdus. Iš tokių trijų matavimų vaizdų rinkinio galima identifikuoti

ląsteles, kurios dalijasi, ir sekti jų judėjimą visomis kryptimis. Panašiu būdu galima sekti ir atskirus melanocitus (specializuota ląstelė, sintetinanti odos, plaukų ir ragenos pigmentus), migruojančius gyvuose audiniuose. Ląstelės dalys – membrana, branduoliai ir kita ląstelių morfologija puikiai matomos tokių tyrimų metu.

5.5.3. Įvairios medicinos sritys

OKT metodika leidžia diagnozuoti ankstyvus patologinius pokyčius *in situ* daugelyje organų. Diagnostinės OKT galimybės tampa ypač svarbios tada, kai įprastinis audinių mėginio paėmimas ankstyvajai diagnozei nustatyti yra nepakankamai efektyvus ar negalimas.

Barretto stemplė yra būsena, kai skrandžiui artimos stemplės srities ląstelės pasikeičia tapdamos panašios į virškinamojo trakto ląsteles. Šią būseną greičiausiai sukelia chroniškas refliuksinis ezofagitas (kai skrandžio sultys nuolat kyla į stemplę). Ištirta, kad Barretto stemplė susijusi su 30–125 kartus didesne rizika susirgti adenokarcinoma. Todėl endoskopinę stemplės epitelio apžiūrą didesnės rizikos grupės asmenims rekomenduojama atlikti kas 12–18 mėnesių. Endoskopijų metu dažniausiai paimami atsitiktiniai gleivinės bandiniai iš įtartinos gleivinės dalies 1–2 cm atstumu. Tačiau tai darant dažnai pasitaiko klaidų ir maži karcinomos židiniai gali likti nepastebėti. Dėl tokių netikslumų ir dėl didelių procedūrų kainų kuriami nauji pacientų būklės vertinimo metodai. Virškinamojo trakto apžiūrai yra naudojami endoskopiniai ultragarso kateteriai. Tačiau jų raiška siekia 50–100 µm ir yra nepakankama, kad būtų galima atskirti kiekvieną ankstyvą epitelio pokytį Barretto stemplės atveju ir linkusias tapti piktybiškomis ląsteles.

Dėl anksčiau minėtų priežasčių OKT galimybė atskirti normalų audinį nuo patologinio yra vienas pagrindinių daugelio mokslininkų tyrimo objektų. Palyginamieji tyrimai rodo gerą OKT vaizdų ir histologinių tyrimų rezultatų atitikimą. Daugelio OKT sistemų vaizdų raiška (10–15 µm) yra pakankama, kad būtų galima išskirti architektūrinę, bet ne ląstelinę audinių morfologiją. Vis dėlto endoskopinė OKT leidžia atskirti sveiką audinį nuo Barretto stemplės epitelio remiantis vien audinių architektūros morfologiniais pokyčiais. Į liaukas panašios struktūros, kurios suardo tolygius epitelio sluoksnius, lengvai atpažįstamos naudojant OKT.

OKT gali būti taikoma daugelio vėžio rūšių morfologinių struktūrų skirtumų nuo sveiko audinio *in situ* atpažinimui. Tomografiją galima taikyti smegenų vėžio detekcijai ir nustatyti naviko ribas. Taikant tokią metodiką chirurginės procedūros metu galima atlikti vaizdu kontroliuojamą rezekciją (vėžinio audinio pašalinimą), siekiant, kad būtų pašalintas visas vėžinis audinys ir liga neatsinaujintų. Tam buvo sukurtas specialus ranka valdomas kompaktiškas ir patogus chirurginis zondas. Juo gaunamas OKT vaizdas visame audinio paviršiuje, kuriame atliekama operacija. Melanomos metastazių smegenyse OKT vaizdai (5.16 pav. A, B) buvo segmentuoti nustatant



5.16 pav. Vėžio diagnostika. Atlikta smegenų žievėje esančios metastazinės melanomos optinė kompiuterinė tomograma. A ir B – nesegmentuoti vaizdai. C ir D – segmentuoti vaizdai. E ir F – to paties audinio histologiniai vaizdai. Adaptuota pagal (Boppart, 2005)

naviko audinyje didžiausios sklaidos sritis, ir šie segmentuoti duomenys buvo uždėti ant originalių vaizdų (5.16 pav., C, D). Navikiniai audiniai pasižymi didesne sklaidos geba ir iš OKT vaizdų galima nustatyti jų ribas. Palyginimui pateikti histologinių tyrimų duomenys. Vaizdų skyra siekia 16 µm, taigi daug geresnė nei tyrimo ultragarsu ar magnetinio rezonanso metodu. Ji leidžia aptikti vėžinius darinius smegenų žievėje ir giliau. Jei būtų pasiekta dar didesnė vaizdo raiška, būtų galima aptikti atskiras vėžines ląsteles, atitrūkusias nuo vėžio židinio. Vėžinių darinių diagnostikai taikoma OKT metodika turi didžiulį taikomąjį potencialą.

Siekiant atkurti trauminių sužalojimų pažeistas organų funkcijas, dažnai tenka atkurti kraujagyslių ir nervų struktūras. Nors tokios operacijos atliekamos su chirurginiais mikroskopais ir lupomis, regėjimo laukas yra apribotas tik paviršiniu operuojamos vietos vaizdu.

Sparčios veikos OKT modulis, sumontuotas kartu su chirurginiu mikroskopu, įgalina operacijos metu gauti trimatį didelės raiškos audinių mikrostruktūros vaizdą. Kadangi su OKT galima gauti ir video vaizdą, šioje srityje jos galimybės labai didelės.

Atliekant OKT tyrimą *in vitro*, galima vaizdinti periferinius nervus bei išskirti atskirus jų pluoštelius. Pirmiausia gaunami atskiri audinio skerspjūviai, paskui iš jų sudaromas trimatis vaizdas. Pasinaudojant tokiais vaizdais galima nustatyti santykinius atskirų nervinio audinio skaidulų skersmenis ir sekti jų erdvinį išsidėstymą. Taip pat galima aptikti ir nustatyti nervinio audinio pažeidimo laipsnį operacijos metu.

Chirurginė intervencija reikalauja vaizdinių priemonių, kad būtų galima identifikuoti audinių morfologiją, išvengti jautrių audinių pažeidimo ir nuolat stebėti intervencijos mastą. OKT leidžia stebėti audinių pašalinimą (abliaciją) lazeriu realiu laiku ir padeda tiksliau nukreipti lazerio spindulį. Paviršinių kraujagyslių operacijų procedūroms dažnai naudojamas argono lazeris. Kadangi kraujo sugerties koeficientas ties šio lazerio spinduliuotės bangos ilgiu (514 nm) didesnis nei raumens, kraujo koaguliacija (krešėjimas) ir kaitimas prasideda anksčiau nei termiškai paveikiami virš kraujagyslės esantys audiniai. OKT įgalino nustatyti terminio poveikio audiniui ir 1,5 mm gylyje esančioms kraujagyslėms mastą. OKT taikant per vaizdu kontroliuojamas chirurgines operacijas gali būti geriau stebima operacijos eiga ir veiksmingiau atliekama kontrolė.

5.5.4. Medžiagotyra

Nors OKT plačiausiai taikoma biologijoje ir medicinoje, ji taip pat gali būti panaudota medžiagotyros srityje. Kadangi daugelis medžiagų smarkiai sklaido ir atspindi šviesą, giliai įsiskverbti taikant OKT nėra galimybių. Vis tik, kadangi daugelis gamybos defektų būna prie pat paviršiaus, OKT gali būti taikoma patikrai ir kokybės kontrolei. OKT buvo taikyta defektams keraminiuose gaminiuose ir polimeriniuose dariniuose aptikti. OKT taip pat buvo panaudota kuriant informacijos laikmenų talpos didinimo būdus, pavyzdžiui, sujungiant keletą sluoksnių su optiškai nuskaitomais duomenimis.

Pastaruoju metu imtos kurti labai sudėtingos mikrokapiliarinės bei bioMEM (biologinės– mikroelektroninės–mechaninės) sistemos, taikomos biotechnologijos ir biomedicinos srityse. Struktūros mikrokapiliarinėse sistemose yra nuo 10 iki 1000 mikronų dydžio. Tokie dydžiai patenka į OKT raiškos ir stebėjimo gylio galimybių ribas. Mikrokapiliarinės sistemos gaminamos iš permatomų arba pusiau permatomų polimerinių medžiagų, kurios didina įsiskverbimo gylį ir yra suderinamos su biologiniais audiniais. Trimačių vaizdų gavimo OKT technologija ateityje taps puikia mikrokapiliarinių sistemų analizės priemone.

Taigi optinė koherentinė tomografija buvo išvystyta kaip moderni diagnostinė priemonė, taikoma biomedicinos srityje, ypač ten, kur įprasti vaizdinimo metodai yra pavojingi arba negali suteikti vertingos informacijos. OKT vystymo sėkmės tąsa priklauso nuo gana nebrangių ir kompaktiškų itin plačios spektrinės srities šviesos šaltinių kūrimo bei gamybos siekiant vis geresnės vaizdų skyros. Tvirto teorinio pagrindo plėtojimas, įmantrių skaitmeninio signalo apdorojimo algoritmų, kurie dar pagerintų signalo kokybę, kūrimas taip pat svariai prisidėtų prie šio vaizdinimo metodo galimybių plėtros.

Literatūra

Akiba M., K.P. Chan, N. Tanno (2003) Full-field optical coherence tomography by two-dimensional heterodyne detection with a pair of CCD cameras. Opt. Lett., 28, 816–818.

Boppart S.A. (2005) Optical coherence tomography, in Tomography, Elsevier, 193–205.

Bouma B., G.J. Tearney, I.P. Bilinsky, B. Golubovic, J.G. Fujimoto (1996) Self-phase-modulated kerr-lens mode-locked Cr:forsterite laser source for optical coherence tomography. Opt. Lett., 21, 1839–1841.

Bouma B., G.J. Tearney, S.A. Boppart, M.R. Hee, M.E. Brezinski, J.G. Fujimoto (1995) High–resolution optical coherence tomographic imaging using a mode–locked Ti:sapphire laser source. Opt. Lett., 20, 1486–1488.

Bourquin S., P. Seitz, R. P. Salathé (2001) Optical coherence tomography based on a twodimensional smart detector array. Opt. Lett., 26, 512–514.

Brezinski M.E., J.G. Fujimoto (1999) Optical coherence tomography: High–resolution imaging in nontransparent tissue. IEEE J. Selected Topics in Quantum Electronics, 5, 1185–1192.

De Boer J.F., S.M. Srinivas, A. Malekafzali, Z.P. Chen, J.S. Nelson (1998) Imaging thermally damaged tissue by polarization sensitive optical coherence tomography. Opt. Express, 3, 212–218.

Drexler W., U. Morgner, F.X. Kartner, C. Pitris, S.A. Boppart, X.D. Li, E.P. Ippen, J. G. Fujimoto (1999) *In vivo* ultrahigh–resolution optical coherence tomography. Opt. Lett., 24, 1221–1223.

Dubois A., G. Moneron, C. Boccara (2006) Thermal–light full–field optical coherence tomography in the 1.2 µm wavelength region. Opt. Commun., 266, 738–743.

Dubois A., L. Vabre, A.C. Boccara, E. Beaurepaire (2002) High–resolution full–field optical coherence tomography with a Linnik microscope. Appl. Opt., 41, 805–812.

Dunsby C., Y. Gu, P.M.W. French (2003) Single-shot phase-stepped wide-field coherence gated imaging. Opt. Express, 11, 105–115.

Endo T., Y. Yasuno, S. Makita, M. Itoh, T. Yatagai (2005) Profilometry with line-field Fourierdomain interferometry. Opt. Express, 13, 695–701.

Fan C., Y. Wang, R.K. Wang (2007) Spectral domain polarization sensitive optical coherence tomography achieved by single camera detection, Opt. Express, 15, 7950–7961.

Fercher A.F., C.K. Hitzenberger, C.K. Kamp, S.Y. El-Zayat (1995) Measurement of intraocular distances by backscattering spectral interferometry. Opt. Comm., 117, 43–48.

Fercher A.F., K. Mengedoht, W. Werner (1988) Eye length measurement by interferometry with partially coherent light. Opt. Lett., 13, 186–188.

Fujimoto J.G., C. Pitris, S.A. Boppart, M.E. Brezinski (2000) Optical Coherence Tomography: An emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy. Neoplasia, 2, 9–25.

Grajciar B., M. Pircher, A. Fercher, R. Leitgeb (2005) Parallel Fourier domain optical coherence tomography for in vivo measurement of the human eye. Opt. Express, 13, 1131–1137.

Grieve K., A. Dubois, M. Simonutti, M. Paques, J. Sahel, J. Le Gargasson, C. Boccara (2005) *In vivo* anterior segment imaging in the rat eye with high speed white light full–field optical coherence tomography. Opt. Express, 13, 6286–6295.

Häusler G., M.W. Lindner (1998) "Coherence radar" and "spectral radar" – new tools for dermatological diagnosis. J. Biomed. Opt., 3, 21–31.

Huang D., E.A. Swanson, C.P. Lin, J.S. Shuman, W.G. Stinson, W. Chang, M.R. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C.A. Puliafito, J.G. Fujimoto (1991) Optical coherence tomography. Science, 254, 1178–1181.

Karamata B., P. Lambelet, M. Laubscher, R.P. Salathé, T. Lasser (2004) Spatially incoherent illumination as a mechanism for cross-talk suppression in wide-field optical coherence tomography. Opt. Lett., 29, 736–738.

Lebec M., L.Blanchot, H. Saint–Jalmes, E. Beaurepaire, A. C. Boccara (1998) Full–field optical coherence microscopy. Opt. Lett., 23, 244–246.

Leitgeb R.A., C.K. Hitzenberger, A.F. Fercher (2003) Performance of Fourier domain vs. time domain optical coherence tomography. Opt. Express, 11, 889–894.

Leitgeb R.A., C.K. Hitzenberger, A.F. Fercher, T. Bajraszewski (2003) Phase–shifting algorithm to achieve high–speed long–depth–range probing by frequency–domain optical coherence tomography", Opt. Lett., 28, 2201–2203.

Nassif N., B. Cense, B.H. Park, S.H. Yun, T.C. Chen, B.E. Bouma, G.J. Tearney, J.F. de Boer (2004) *In vivo* human retinal imaging by ultrahigh–speed spectral domain optical coherence tomography. Opt. Lett., 29, 480–482.

Pasquesi J. J., S. C. Schlachter, M.D. Boppart, E. Chaney, S.J. Kaufman, S.A. Boppart (2006) *In vivo* detection of exercise–induced ultrastructural changes in genetically–altered murine skeletal muscle using polarizationsensitive optical coherence tomography. Opt. Express, 14, 1547–1556.

Rollins A.M., M.D. Kulkarni, S. Yazdanfar, R. Ungarunyawee, J.A. Izatt (1998) *In vivo* video rate optical coherence tomography. Opt. Express, 3, 219–229.

Roy M., P. Svahn, L. Cherel, C.J.R. Sheppard (2002) Geometric phase–shifting for low–coherence interference microscopy. Opt. Lasers Engineering, 37, 631–641.

Schmitt J.M. (1999) Optical coherence tomography (OCT): A review, IEEE J. Selected Topics in Quantum Electronics, 5, 1205–1215.

Tearney G.J., B.E. Bouma, J.G. Fujimoto (1997) High–speed phase– and group–delay scanning with a grating–based phase control delay line. Opt. Lett., 22, 1811–1813.

Watanabe Y., Y. Takasugi, K. Yamada, M. Sato (2006 c) Axial–lateral parallel time domain OCT with an optical zoom lens and high order diffracted lights for variable imaging range. Opt. Express, 15, 5208–5217.

Watanabe Y., K. Yamada, M. Sato (2006 a) *In vivo* nonmechanical scanning grating–generated optical coherence tomography using an InGaAs digital camera. Opt. Comm., 261, 376–380.

Watanabe Y., K. Yamada, M. Sato (2006 b) Three–dimensional imaging by ultrahigh–speed axial–lateral parallel time domain optical coherence tomography. Opt. Express, 14, 5201–5209.

Wojtkowski M., A. Kowalczyk, R. Leitgeb, A. F. Fercher (2002) Full range complex spectral optical coherence tomography technique in eye imaging. Opt. Lett., 27, 1415–1417.

Yasuno Y., T. Endo, S. Makita, G. Aoki, M. Itoh, T. Yatagai (2006) Three–dimensional line–field Fourier domain optical coherence tomography for *in vivo* dermatological investigation. J. Biomed. Opt., 11, 014014–014020.

Yamanari M., S. Makita, V.D. Madjarova, T. Yatagai, Y. Yasuno (2006) Fiber-based polarization-sensitive Fourier domain optical coherence tomography using B-scan-oriented polarization modulation method. Opt. Express, 14, 6502–6515.

Yeow J.T.W., V.X.D. Yang, A. Chahwan, M.L. Gordon, B. Qi, I.A. Vitkin, B.C. Wilson, A.A. Goldenberg (2004) Micromachined 2–D scanner for 3–D optical coherence tomography. Sensors and Actuators A, 117, 331-340.

Yun S.H., G.J. Tearney, J.F. de Boer, N. Iftimia, B.E. Bouma (2003) High-speed optical frequency-domain imaging, Opt. Express, 11, 2953-2963.

Zeylikovich I., A. Gilerson, R.R. Alfano (1998) Nonmechanical grating–generated scanning coherence microscopy. Opt. Lett., 23, 1797–1799.

Zuluaga A., R. Richards–Kortum (1999) Spatially resolved spectral interferometry for determination of subsurface structure. Opt. Lett., 24, 519–521.