

Optische coherentie-tomografie: driedimensionale afbeeldingen van de levende huid

Egbert Lenderink

*Philips Research Laboratories / Personal Care Institute
Professor Holstlaan 4, 5656 AA Eindhoven*

Inleiding

Optische meetmethoden vinden steeds meer toepassingen op biofysisch en biomedisch gebied (zie ref 1 voor een recent overzicht). Ze maken geen gebruik van ioniserende straling en zijn daarom bij uitstek geschikt voor onderzoek van levend weefsel. Daarnaast bieden ze vaak de mogelijkheid om niet-invasief te meten, dat wil zeggen zonder te prikken of te snijden.

In de dermatologie worden sinds jaar en dag optische technieken gebruikt om diagnoses te stellen. De belangrijkste methode is histologie. Een uitgesneden stuk weefsel wordt gefixeerd, in plakjes gesneden, gekleurd, en in transmissie bekeken onder de lichtmicroscopie. Het is de meest nauwkeurige methode om de huid optisch te onderzoeken, het heeft een hoge resolutie en een grote specificiteit voor ziektebeelden. Het is echter duidelijk dat deze techniek bepaald wel invasief is, en men kan er niet mee naar de levende huid kijken.

De standaardmethoden om de levende, onbeschadigde huid te inspecteren staan bekend als dermatoscopie en epiluminescentiemicroscopie. Een sterke lamp wordt op de huid gericht en het huidoppervlak wordt geïnspecteerd door een loupe of een in reflectie werkende lichtmicroscopie.

In de laatste jaren zijn technieken ontwikkeld om ook *in* de levende huid te kunnen kijken met microscopische resolutie. Een van deze technieken is confocale microscopie, waarmee tweedimensionale "optische uitsneden" uit de levende huid in

beeld gebracht kunnen worden tot een diepte van maximaal 200 μm [2,3].

De factor die deze indringdiepte beperkt is het diffuus verstrooide licht, dat ontstaat doordat levend weefsel optisch gezien een wanordelijk medium is. Een techniek die dit diffuus verstrooide licht beter onderdrukt dan confocale microscopie, en daardoor dieper doordringt in het weefsel, is optische coherentie-tomografie (OCT) [4]. OCT is gebaseerd op een techniek uit de fiberoptica die daar bekend staat als optische coherentiedomeinreflectometrie en die gebruikt wordt voor het lokaliseren van reflecties in kleine fiberoptische devices [5].

Met OCT kunnen plaatjes gemaakt worden die lijken op histologische afbeeldingen [6,7], zonder dat daarbij in de huid gesneden hoeft te worden. De methode is daarnaast met succes gebruikt voor verschillende andere biomedische toepassingen, zoals het in beeld brengen van het netvlies [4,8] en de binnenwand van bloedvaten [9]. Doordat alle reflecties binnen in een object nauwkeurig gelokaliseerd kunnen worden, opent OCT de weg naar werkelijk driedimensionale afbeelding van levend weefsel.

Principe

De onderliggende meetmethode van OCT is laagcoherente interferometrie, ook bekend als wit-licht-interferometrie. Met laagcoherent licht wordt in een interferometer alleen een coherent signaal gemeten als

de beide armen van de interferometer nauwgevoeg dezelfde optische weglengte hebben

Voor een eenvoudige Michelson-interferometer waarin twee vlakke golven met amplitudes A_1 en A_2 met elkaar interfereren, geldt voor het gedetecteerde signaal I

$$I = A_1^2 + A_2^2 + 2A_1A_2\text{Re}\{\gamma(\Delta L)\}$$

Alleen de derde term in deze uitdrukking is afhankelijk van ΔL , het verschil in optische weglengte tussen beide armen. De grootte van deze term wordt bepaald door de functie $\gamma(\Delta L)$, die de coherentie-eigenschappen van het licht beschrijft

Door het theorema van Wiener en Chintsjin is $\gamma(DL)$ rechtstreeks gerelateerd aan het spectrum [10]. Als we $\Gamma(t)$ definiëren als de Fourier-getransformeerde van het spectrum van het licht, dan geldt:

$$\gamma(\Delta L) = \frac{\Gamma(\Delta L/c)}{\Gamma(0)}$$

waarin c de lichtsnelheid is. De deling door $\Gamma(0)$ (de totale integraal van het spectrum) zorgt ervoor dat $\gamma(\Delta L)$ genormaliseerd is op 1 voor $\Delta L = 0$. De breedte van $\gamma(\Delta L)$ wordt wel de *coherentiellengte* genoemd. In het algemeen geldt: hoe breder het spectrum van het licht, hoe kleiner de coherentiellengte.

Bij OCT wordt de eindspiegel van een van beide armen van de Michelson-interferometer (de *objectarm*) vervangen door het af te beelden object. Door het interferentiesignaal te meten als functie van de positie van de eindspiegel in de andere arm (de *referentiearm*), wordt de reflectiviteit van het object als functie van de diepte geregistreerd. De coherentiellengte bepaalt hoe nauwkeurig de positie van elke reflectie in het object bepaald kan worden.

In een vereenvoudigd model wordt het object beschreven als een verzameling reflecterende oppervlakken, ieder met een bepaalde gereflecteerde amplitude A_i en geassocieerde optische weglengte L_i . Als

we de amplitude en weglengte uit de referentiearm A_r en L_r noemen, wordt de interferentieterm gelijk aan:

$$I_{if} = 2A_r \sum_i A_i \text{Re}\{\gamma(L_r - L_i)\}$$

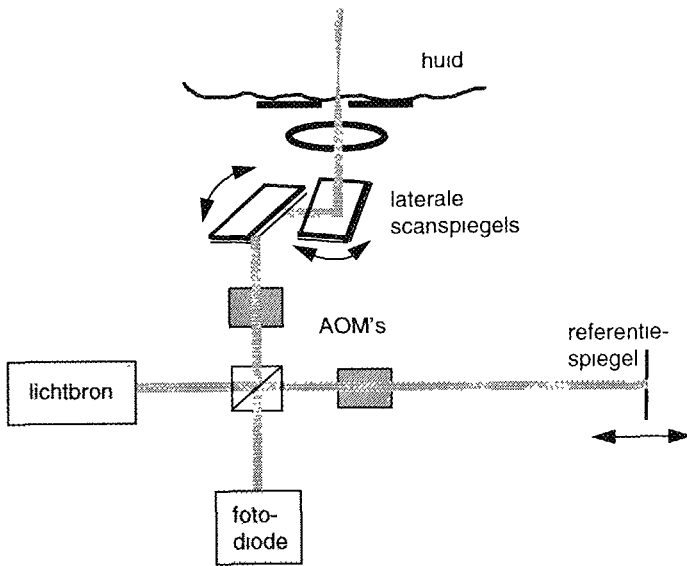
Als alle reflecties ver uit elkaar liggen (veel verder dan de coherentiellengte), is er bij elke waarde van L_r op zijn hoogst één reflectie die substantieel bijdraagt aan het signaal. Als er echter meerdere reflecties binnen één coherentiellengte liggen, zullen deze allemaal tegelijk een bijdrage leveren aan het signaal. Elke bijdrage wordt vermenigvuldigd met de op ruimtelijke schaal snel oscillerende functie $\text{Re}\{\gamma(L_r - L_i)\}$. In een object waar de onderlinge afstand tussen de reflecties wanordelijk verdeeld is, zal ook de sommatie over de verschillende $\text{Re}\{\gamma\}$ wanordelijk verspringen. Het resultaat is dat het signaal als functie van L_r eruit ziet als een spikkelpatroon [11].

Bovenstaande beschrijving is simpel en een-dimensionaal, maar laat alle essentiële kenmerken van een OCT-opname zien. Een uitgebreidere beschrijving is nodig om de gemeten signalen te relateren aan de optische eigenschappen van het object, zoals dichtheid van verstrooiers en hoekafhankelijkheid van de verstrooiingsprocessen. Zie ref. 12 voor een uitgewerkte versie van een dergelijk model.

De kracht van OCT komt vooral tot uitdrukking in sterk verstrooiende objecten. Het licht dat bijdraagt aan het OCT-signaal moet aan twee voorwaarden voldoen

- het moet een nauwkeurig bepaalde optische weglengte hebben afgelegd,
- het golffront moet niet te veel verstoord zijn, zodat het faseverschil met de referentiebundel zo weinig mogelijk varieert over het gehele detectoroppervlak.

Meervoudig verstrooid licht heeft over het algemeen een veel langere weg afgelegd en draagt daarom pas bij aan het signaal wanneer de referentiespiegel ver naar achteren staat. Daarnaast is het golffront door de verschillende verstrooiingsprocessen



Afb 1
Schematische weergave van een meetopstelling voor OCT

sterk verstoord, waardoor het naar verhouding veel minder bijdraagt aan het signaal. Uiteindelijk, op grotere diepten in het verstrooiende object, wordt het meervoudig verstrooide licht toch overheersend. De kleine fractie van het meervoudig verstrooide licht die toch de juiste weglengte heeft afgelegd en toch nog een voldoende bepaald golffront heeft, wordt groter dan het sterk verzwakte enkelvoudig verstrooide licht diep uit het object. Dit gebeurt echter pas veel dieper dan bij confocale microscopie, waarbij alleen op golffront wordt gediscrimineerd, en bij tijdsopgeloste reflectometrie, waarbij juist alleen op weglengte wordt gediscrimineerd.

Meetopstelling

Het hart van de meetopstelling is een Michelson-interferometer; zie Afb.1 voor een schematische tekening van de opstelling zoals die in ons lab wordt gebruikt voor het maken van OCT-afbeeldingen. Een

laserdioden met antireflectiecoating op een van de facetten wordt gebruikt als laagcoherente lichtbron; deze lichtbron heeft een golflengte van 670 nm. Met deze lichtbron kan in het weefsel een diepteresolutie van ca. 12 μm worden bereikt. De referentie-arm is afgesloten met een spiegel op een translatietafel met een precisie van 0,1 μm waarmee de axiale positie van de spiegel kan worden ingesteld.

In de objectarm staan twee galvanometerspiegels, waarmee de bundel in beide laterale richtingen over het object kan worden bewogen. Door een lens met $f = 30$ mm wordt de bundel op het object gefocuseerd. Er is bewust gekozen voor een objectieflens met lage numerieke apertuur, zodat deze bij het afbeelden op verschillende dieptes niet in axiale richting hoeft te worden bewogen.

Bij een vaste positie van de referentiespiegel (dus een vaste diepte in het object) kan een tweedimensionale laterale afbeelding

worden opgenomen. Het is ook mogelijk om één laterale richting samen met de axiale richting te scannen, en zo een tweedimensionale uitsnede loodrecht op het huidoppervlak af te beelden

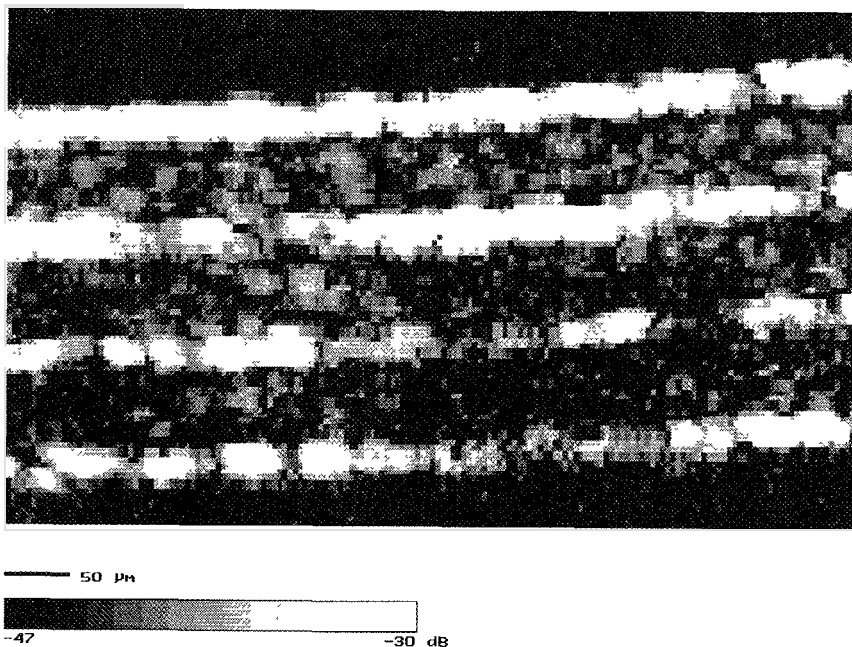
Door het maken van meerdere tweedimensionale uitsneden op verschillende dieptes kan een driedimensionale afbeelding van het object opgebouwd worden

De uittreeopening van de module, waarop het object gelegd kan worden, is zo uitgevoerd en gepositioneerd dat ook lichaamsdelen als hand, arm en kin erop gelegd kunnen worden. Binnen 30 s wordt een tweedimensionale opname gemaakt. Deze tijd is over het algemeen voldoende om het in beeld te brengen lichaamsdeel op de houder op 20 μm nauwkeurig onbeweeglijk te houden.

De interferentiebijdrage aan het detector-sig-naal wordt gescheiden van het achtergronds-gig-naal door een modulatriec. Het

licht krijgt in beide armen een Dopplerver-schuiving opgelegd door diffractie in een akoesto-optische modulator (AOM); hier-door krijgt het interferentiesig-naal een mo-dulatie (met een frequentie gelijk aan tweemaal de verschilfrequentie van de AOM's). Het sig-naal uit de fotodiode wordt op deze frequentie gefilterd en gedemodu-leerd. Hierdoor is het niet meer mogelijk de fase van het interferentiesig-naal te bepa-len, alleen de intensiteit wordt gemeten. De detectie is door deze modulatriec zo gevoelig geworden dat reflecties met een relatieve intensiteit tot 80 dB ten opzichte van het opvallende licht nog gedetecteerd kunnen worden.

De gehele opstelling kan ook als fiberinter-ferometer uitgevoerd worden. Om de effec-ten van dispersie in het fibermateriaal te minimaliseren moet er gebruik gemaakt worden van *single-mode* fibers en moeten de fibers in beide armen precies even lang



Afb 2
OCT-opname van drie lagen plakband op elkaar gekleefd.

zijn. Een fiber-OCT-opstelling kan geïntegreerd worden met een endoscoop en kan dan gebruikt worden om de binnenwand van bloedvaten in beeld te brengen [9]

Resultaten

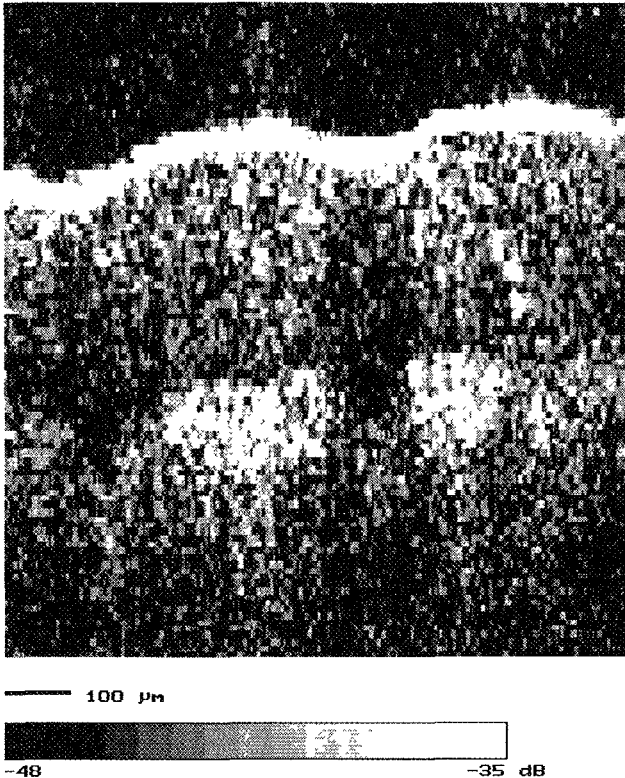
Als illustratie van het vermogen van OCT om reflecties vanuit verschillende diepten in een object te scheiden, staat in Afb.2 een OCT-opname van drie lagen op elkaar gekleefd plakband afgebeeld.

De reflecties aan de twee buitenste oppervlakken en de twee grensvlakken tussen de drie lagen zijn duidelijk waar te nemen. Daarnaast is ook te zien dat binnen in het materiaal zelf ook nog een kleine hoeveelheid licht wordt gereflecteerd, terwijl de afbeelding buiten de drie lagen plakband

geheel zwart is

Afb.3 laat zien hoe een typische OCT-opname van de vingertop eruit ziet. Deze opname is *in vivo* gemaakt, zonder enige preparatie: de proefpersoon heeft zijn vingertop tegen de uittreopening van de scanmodule geplaatst. Door hem met lichte druk tegen de module aan te houden, worden bewegingen in de buurt van het huidoppervlak tegengegaan en kan het afgebeelde stuk huid gedurende de meettijd worden stilgehouden tot op ca 20 μm nauwkeurig

De lichte golvende lijn boven in de afbeelding ontstaat door de reflectie van het huidoppervlak. In vrijwel alle gevallen is dit de sterkste reflectie die in de afbeelding waarneembaar is. De golven zijn een dwars-



Afb 3
OCT opname van de top van de middelvinger, loodrecht op het huidoppervlak en dwars op de lijnen van de vingerafdruk. Op enkele honderden μm onder het huidoppervlak zijn de dermale papillen zichtbaar als heldere gebieden (gebieden met sterk signaal).

doorsnede door de "ribbels" van de vingerafdruk

De buitenste huidlaag, onmiddellijk onder het oppervlak, is de opperhuid of *epidermis*. In de epidermis zijn op deze plek twee lagen te onderscheiden: de laag vlak onder het huidoppervlak, de hoornlaag of *stratum corneum*, bestaande uit dode en verhoornde huidcellen, en daaronder de levende epidermis. Hierin bevinden zich weinig structuren die licht verstrooien, vandaar dat deze laag in de afbeelding bijna zwart is

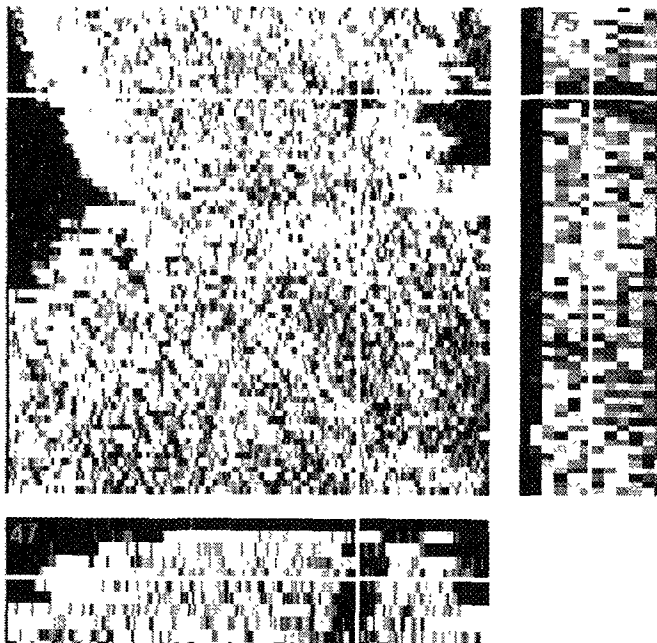
Onder de epidermis is weer een sterk verstrooiende laag zichtbaar, waarvan het bovenste oppervlak gegolfd is. Dit is de rand van de lederhuid of *dermis*. In de dermis zitten o.a. bloedvaten en zenuwuiteinden, die veel licht verstrooien. De uitstulpingen van de dermis heten *papillen*. Op de vin-

gertop liggen deze papillen onder de lijnen die de vingerafdruk vormen

Dieper in de huid wordt het beeld steeds donkerder. Dat komt niet doordat het weefsel daar minder reflecteert, maar doordat het signaal op zijn weg daarheen en weer terug verzwakt wordt; niet alleen door absorptie, maar vooral ook doordat licht uit de bundel weg wordt verstrooid en doordat de vorm van het fasefront verstoord wordt bij het passeren van inhomogeniteiten

De huidlagen zijn duidelijk te onderscheiden, maar de afzonderlijke cellen zijn niet zichtbaar. De resolutie van OCT is vrijwel altijd onvoldoende om afzonderlijke cellen waar te nemen. Ook kleine haarvaten zijn nauwelijks afzonderlijk zichtbaar.

Confocale microscopie kan de cellen wel afzonderlijk zichtbaar maken, maar deze techniek komt minder diep in de huid. Aan de andere kant is de resolutie van OCT



Afb 4
Drie loodrechte doorsneden door een driedimensionale OCT-afbeelding, gemaakt op de kin ($1 \times 1 \times 0,25 \text{ mm}^3$). De oriëntatie van een baardhaar (omcirkeld in het paneel van $1 \times 1 \text{ mm}^2$) is in alle richtingen vast te stellen

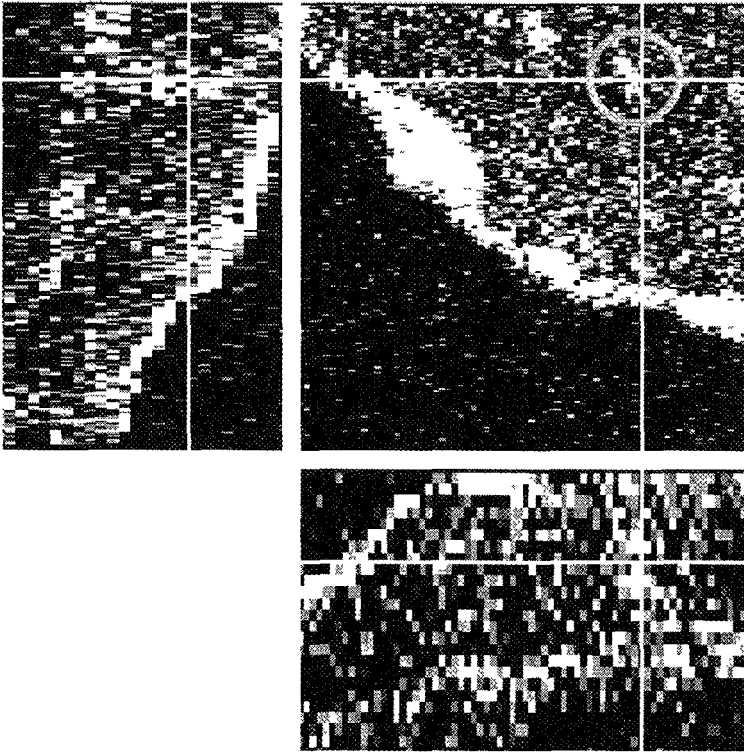
veel beter dan de resolutie van opnamen gemaakt met ultrageluid, die over het algemeen niet kleiner is dan 0,1 mm.

Een probleem met tweedimensionale OCT-afbeeldingen is dat ze vaak moeilijk te duiden zijn, omdat geen informatie beschikbaar is over wat zich buiten het vlak van afbeelding bevindt. Dit geldt met name als er kleine objecten, zoals haren en talgkliertjes, in de afbeelding voorkomen. Door meerdere vlakken na elkaar af te beelden, kan een volledig driedimensionale afbeelding van de huid verkregen worden.

Afb. 4 is een voorbeeld van een driedimensionale OCT-meting. Elf tweedimensionale afbeeldingen van "uitsneden" parallel aan het huidoppervlak van de kin zijn hier ge-

combineerd tot één driedimensionale afbeelding. Voor de weergave op papier zijn drie loodrechte doorsneden door het volume geconstrueerd. Het vierkante paneel links boven in Afb. 4 stelt een vlak van 1x1 mm² voor, ongeveer parallel aan het huidoppervlak, voor het grootste deel vlak onder het oppervlak. De smalle panelen rechts en onder stellen vlakken van 0,25x1 mm² voor die loodrecht op het grote vlak staan en dat vlak langs de weergegeven kruisdraden doorsnijden.

In het vlak parallel aan het huidoppervlak is rechts boven een donkere, elliptische vlek met een diameter van ~60 µm te zien die markeert waar een haar het vlak doorsnijdt. Uit de afzonderlijke tweedimensio-



Afb. 5
Drie loodrechte doorsneden door een driedimensionale OCT afbeelding op de vingertop. In het paneel linksboven is een heldere vlek zichtbaar; in de loodrechte doorsnede linksonder is te zien dat deze vlek onderdeel uitmaakt van het kanaal van een zweetkliertje, dat zich uitstrekt van de rand van de dermis tot aan het huidoppervlak.

nale afbeeldingen is over deze haar niet meer af te leiden dan dat hij er is, maar de totale driedimensionale afbeelding bevat alle informatie over dikte en oriëntatie van de haar.

Afb 5 geeft ook een goede indicatie van de extra informatie die in een driedimensionale afbeelding te vinden is. De afbeelding bestaat weer uit drie panelen, die in de werkelijke 3D afbeelding loodrecht op elkaar staan en elkaar snijden in de aangegeven kruisdraden.

In het vlak linksboven, min of meer parallel aan het huidoppervlak, is een klein helder vlekje te zien in een overigens donkere huidlaag (omcirkeld). In de beide doorsneden loodrecht op het huidoppervlak, met name de doorsnede die linksonder in Afb 5 is afgebeeld, is te zien dat dit heldere vlekje deel uitmaakt van een langwerpige structuur die zich uitstrekt van de rand van de dermis tot aan het huidoppervlak. Het is het kanaaltje van een zweetkliertje, waarlangs zweet vanuit het kliertje naar het huidoppervlak wordt gevoerd.

Conclusies en vooruitzichten

OCT biedt een uitgelezen manier om met microscopische resolutie in de levende huid te kijken zonder erin te hoeven snijden. Het kan een krachtig hulpmiddel worden, niet alleen op medisch, maar ook op cosmetisch gebied, waar de drempel om daadwerkelijk in de huid te snijden zo mogelijk nog groter is.

Het is echter wel duidelijk dat er nog veel moet gebeuren voordat OCT routinematig gebruikt kan worden om de huid te inspecteren. De expertise voor het lezen van de informatie in de afbeeldingen moet nog opgebouwd worden. Het spikkelpatroon, dat over de "nuttige" informatie van de afbeelding ligt, maakt de interpretatie ook moeilijker. Beeldbewerkingsmethoden die de spikkel uitwassen en structuren beter zichtbaar maken bestaan al wel [13], maar verslechteren de resolutie.

Wat het onderzoek van de huid betreft, is OCT complementair aan confocale microscopie (resolutie 3 μm , indringdiepte 0,2

mm) en ultrageluid (resolutie $>0,1$ mm, indringdiepte >5 mm). De niche van OCT zal in de komende jaren vermoedelijk kleiner worden door de snelle ontwikkelingen op het gebied van hoogfrequent ultrageluid en hoge-resolutie MRI, waar resoluties loodrecht op het huidoppervlak van minder dan 50 μm inmiddels gedemonstreerd zijn. De laterale resolutie van deze technieken is echter nog steeds veel slechter dan van OCT. Voor het in beeld brengen van haren en andere kleine structuren ($<0,1$ mm) blijft OCT de techniek bij uitstek.

Referenties

1. T.F. Deutsch, *Proc IEEE* 85, 1797 (1997).
2. P. Corcuff, G. Gonnord, G.E. Piérard en J.L. Lévêque, *Scanning* 18, 351 (1996).
3. M. Rajadhyaksha en J.M. Zavislan, *Laser Focus World* Feb 1997, p. 119.
4. 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, *Science* 254, 1178 (1991).
5. B.L. Danielson en C.D. Whittenberg, *Appl. Opt.* 26, 2836 (1987).
6. J.M. Schmitt, M.J. Yadlowsky en R.F. Bonner, *Dermatology* 19, 193 (1995).
7. Y. Pan, E. Lankenau, J. Welzel, R. Birngruber en R. Engelhardt, *IEEE, J. Sel. Topics Quantum Electron* 2, 1029 (1996).
8. W. Drexler, C.K. Hitzenberger, H. Sattmann en A.F. Fercher, *Opt. Eng.* 34, 701 (1995).
9. G.J. Tearney, M.E. Brezinski, B.E. Bouma, S.A. Boppart, C. Pitris, J.F. Southern en J.G. Fujimoto, *Science* 276, 2037 (1997).
10. J.W. Goodman, *Statistical Optics* (Wiley, New York, 1985), hoofdstuk 5.
11. Y. Pan, R. Birngruber, J. Rosperich, en R. Engelhardt, *Appl. Opt.* 34, 6564 (1995).
12. J.M. Schmitt en A. Knüttel, *J. Opt. Soc. Am. A* 14, 1231 (1997).
13. S.H. Xiang, L. Zhou en J.M. Schmitt, *Proc. SPIE* 3196, 79 (1998).