

ВЫСОКОСКОРОСТНАЯ ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ ТОМОГРАФИЯ

Висковатых А.В.¹, Пожар В.Э.²

¹Научно-технологический центр уникального приборостроения РАН (НТЦ УП РАН),
117342, Москва, ул. Бутлерова, 15

²Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана (МГТУ)
105005, Москва, ул. 2-я Бауманская, 5

Аннотация

Рассмотрены физические и технические принципы построения оптических когерентных томографов, их место и роль среди неразрушающих методов построения томографических изображений. Проанализированы фундаментальные и технические ограничения в достижении высокого разрешения и времени получения образов. Дана оценка перспективы развития высокоскоростных оптических когерентных томографов на акустооптических фильтрах и способов ее достижения.

Ключевые слова: оптическая когерентная томография, акустооптический фильтр, интерферометрия, микроскопия, Фурье преобразование.

Введение

В течение последних десятилетий произошли грандиозные улучшения в технологии формирования биомедицинских образов. Томография магнитного резонанса, рентгеновская компьютерная томография, ультразвуковая томография, конфокальная микроскопия широко применяются по всему миру в исследовательской и клинической практике и позволили получить выдающиеся результаты, как в фундаментальных исследованиях, так и в задачах здравоохранения. Однако существует много ситуаций, где данные методы не являются адекватными, - в первую очередь там, где требуется изображение с высоким пространственным разрешением (1 мкм). Разрешение на таком уровне часто требует биопсии и гистопатологического исследования. Такие исследования относятся к наиболее мощным исследовательским методикам, но являются болезненными и могут требовать больших временных и финансовых затрат. Кроме того, во многих ситуациях обычная биопсия отбора пробы не возможна. Заболевание коронарной артерии, приводящая ко многим заболеваниям и даже к смерти, патология сетчатки, приводящая к слепоте, являются одними из важнейших примеров заболевания, где не может быть применена обычная биопсия отбора пробы. Существует много других примеров, где биопсия также не может быть применена, а у методик, формирующих образы, не достаточно разрешения и чувствительности для установления правильного диагноза. Быстрый рост технологий в конце прошлого века привел к появлению новых областей научных исследований, имеющих беспрецедентное воздействие на базовые биомедицинские исследования и клиническую медицину. Научные результаты, полученные в настоящее время, используются в разработке медицинских изображений, широко применяемых в клинической практике. Там, где это возможно, делается попытка устранить и заменить инвазивные и контактные методы в пользу других методов, обеспечивающих аналогичные результаты без негативного влияния на исследуемые объекты. Значительную роль среди современных медицинских методов построения изображений играют оптические методы, включая флуоресцентные изображения, эндоскопию, сканирующую лазерную микроскопию, многофокальную микроскопию и оптическую томографию. Сравнительные характеристики ОКТ и традиционных методов формирования образов представлены на рис.1.

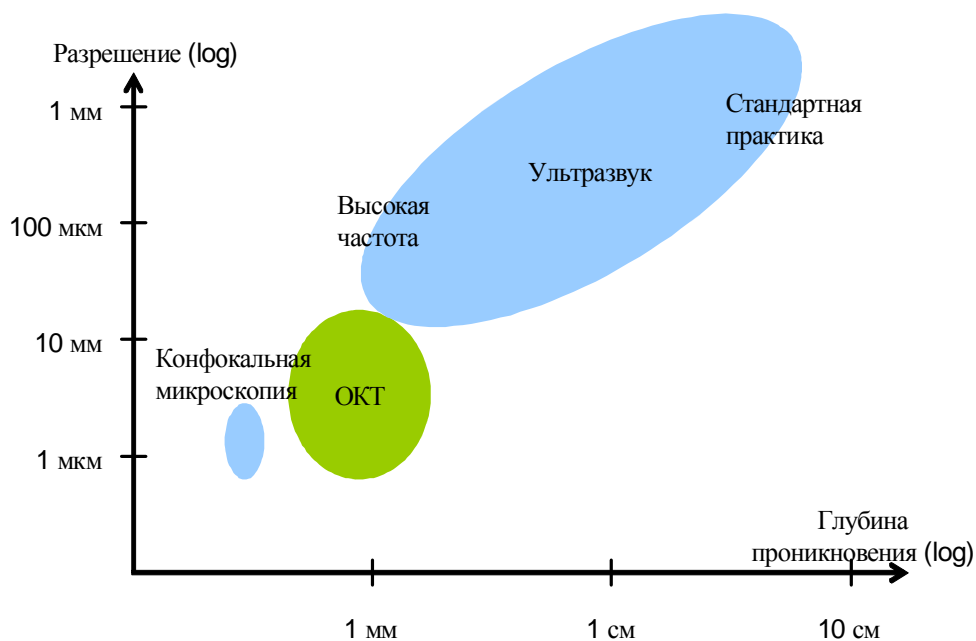


Рис.1. Сравнительные характеристики ОКТ и традиционных методов формирования биомедицинских образов.

Оптический метод, который позволяет увеличить рабочее расстояние и улучшить осевое разрешение, по сравнению с конфокальной микроскопией — оптическая когерентная томография (ОКТ). Оптическая когерентная томография (ОКТ) — это принципиально новая возможность получения оптических изображений, позволяющая получать томографические изображения поперечного сечения внутренней микроструктуры в материалах и биологических системах с высоким разрешением, посредством измерения интенсивности отраженного или рассеянного от них света. В ОКТ может быть достигнуто разрешение изображений на уровне 1–15 мкм. Изображения можно получать непосредственно на живом объекте и в режиме реального времени. Уникальные возможности этой технологии позволяют широкий спектр научных исследований и клинических приложений. Особенно актуальными в последнее десятилетие становится быстрое развитие высокоскоростных ОКТ систем, которые в настоящее время способны выполнять построение изображений поперечных оптических срезов живых биологических образцов со скоростью более чем 10^5 А-сканов в секунду (площадь $\sim 300 \times 300$ пикселей). Этот прогресс в технологии ОКТ был достигнут путем разработки методов регистрации в спектральной области. Введение возможностей высокоскоростного построения изображений снимает основное ограничение ранних ОКТ технологий, предоставляя доступ к построению объемных крупномасштабных изображений в разумное время. Как результат, могут создаваться новые приборы, которые открывают новые перспективы для существующих ОКТ приложений и открывают новые области исследований на основе биомедицинских образов. Особенно перспективной является возможность построения функциональных изображений, которые позволяют осуществлять дифференциацию патологии тканей через метаболические свойства или функциональные отклики ОКТ в определенной степени аналогична ультразвуковой томографии, которая более известна под названием УЗИ (ультразвуковые измерения), за исключением того, что ОКТ использует свет вместо звука. В УЗИ звуковая волна высокой частоты направляется в материал или ткань, где распространяется и отражается или рассеивается от внутренних структур, которые имеют различные акустические свойства. В зависимости от частоты, при распространении может возникнуть значительное ослабление звуковой волны. Ультразвуковой датчик регистрирует изменения отраженного

сигнала или эхо структуру сигнала во времени, и по этому сигналу определяются диапазоны и размеры внутренней структуры ткани.

Томографические образы - это зависимость интенсивности рассеянного или отраженного от структур внутри образца сигнала в зависимости от расстояния до них. В первом приближении процесс построения изображений можно рассматривать следующим образом: на образец направляется сигнал от источника и последовательно измеряется интенсивность возвращающегося сигнала через определенные промежутки времени. Скорость распространения сигнала известна. По известной скорости и времени прохождения сигнала определяется расстояние. Таким образом получают одномерную томограмму по оси z (А-скан). Если последовательно по шагам смещаться по одной из координат (x или y) и повторять предыдущие измерения, то можно получить двухмерную томограмму или виртуальный срез. Если последовательно смещаться еще по одной координате, то можно получить набор таких срезов или объемную томограмму. На рис. 2 показан один из примеров построения двухмерного ОКТ изображения. Двумерное изображение поперечного сечения регистрируется путем относительно медленного сканирования оптического луча в поперечном направлении (координата x) и последовательных быстрых осевых измерений оптических отраженных или рассеянных профилей в разных поперечных позициях. Результатом является двумерный массив данных, в котором каждый след представляет величину отраженного или рассеянного оптического светового пучка в зависимости от глубины в тканях.

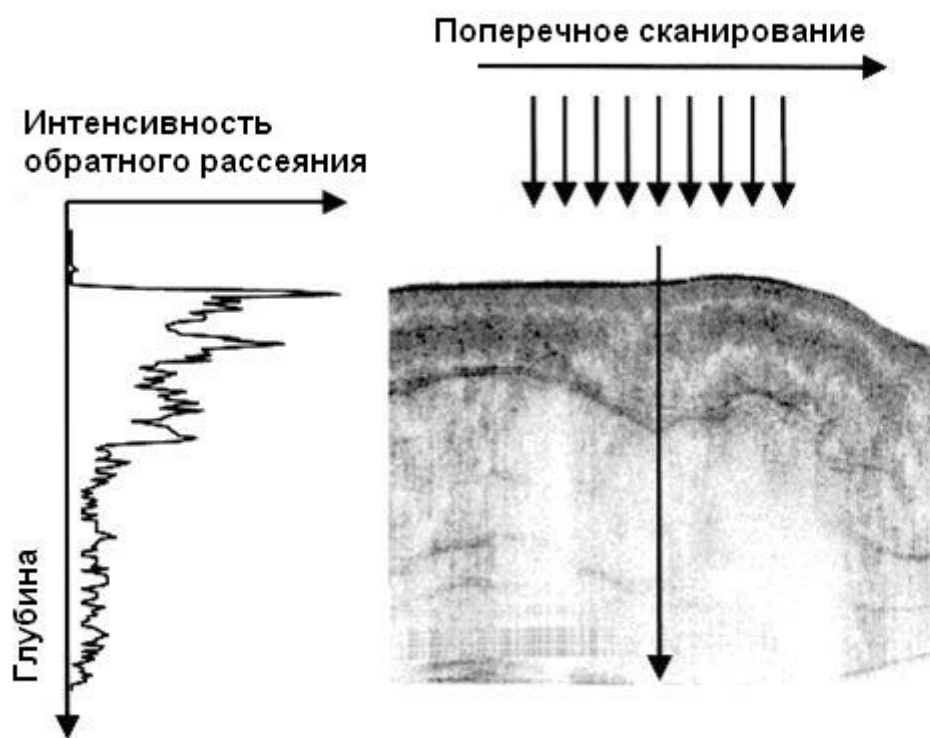


Рис. 2. Построение ОКТ изображения. Слева – зависимость интенсивности отраженного или рассеянного излучения от глубины (А – скан). Справа – последовательность А – сканов, образующих продольный виртуальный срез (интенсивность отраженного или рассеянного излучения представлена градацией серого цвета).

В ОКТ измерение расстояния до микроструктур выполняется с помощью световых волн, которые отражаются или рассеиваются от микроструктурных особенностей внутри материала или ткани. Для целей иллюстрации можно представить световой сигнал как состоящий из коротких оптических импульсов. Основным различием между ультразвуковыми и оптическими изображениями является то, что скорость света

примерно в миллион раз быстрее, чем скорость звука. Скорость звука в воде приблизительно равна 1500 м/с, тогда как скорость света составляет приблизительно $3 \cdot 10^8$ м/с. Это предполагает, что измерение расстояния с помощью света требует сверхвысокого временного разрешения ($\sim 10^{-13}$ с). В связи с этим, важно отметить, что хотя ОКТ может осуществляться с помощью коротких импульсов света, но большинство ОКТ систем применяют непрерывное излучение от широкополосных световых источников и интерферометрию слабой когерентности. Для этого есть, по крайней мере, три важные причины. Первая - нет необходимости обеспечивать столь высокое временное разрешение. Вторая - интерферометрические методы позволяют значительно повысить чувствительность, так как позволяют измерять амплитуду отраженного сигнала, а не интенсивность. Так, например, если обычные, не интерферометрические методы позволяют обнаруживать отражение на уровне 10^{-5} , то амплитудные интерферометрические методы позволяют обнаруживать отражение на уровне 10^{-10} , поскольку измеряется амплитуда, возводя амплитуду в квадрат получаем интенсивность на уровне 10^{-10} . Третья – современные методы ОКТ СО могут быть реализованы только как интерферометрические методы.

Интерферометрические методы измерений в сочетании с методами расчета на основе частотно-временного соотношения Винера – Хинчина и преобразования Фурье составляют базис ОКТ.

Теорема Винера – Хинчина утверждает, что спектральная плотность $S(\omega)$ стационарного случайного процесса связана с его корреляционной функцией $\Gamma(\tau)$ преобразованием Фурье:

$$S(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} \Gamma(t) e^{-i\omega t} dt$$

$$\Gamma(t) = \int_{-\infty}^{\infty} S(\omega) e^{-i\omega t} d\omega$$

Из интегральных преобразований (1) и (2) следует, что если зарегистрировать функцию автокорреляции сигнала $\Gamma(\tau)$, то можно вычислить функцию спектральной мощности сигнала $S(\omega)$. Регистрацию функции автокорреляции сигнала $\Gamma(\tau)$ можно выполнить с помощью интерферометра (рис.3). Интерферометр позволяет разделить входной оптический сигнал спектральной мощности на две части с помощью светоделителя, ввести в одно из плеч интерферометра регулируемую временную задержку сигнала Δt относительно времени прохождения другой части сигнала, перемещая с постоянной скоростью зеркало в этом плече. Затем объединив оба сигнала на светоделителе, зарегистрировать суммарный интерференционный сигнал как функцию временной задержки с помощью детектора. Устройство, реализующее такую регистрацию и вычисления называется Фурье анализатором спектра или Фурье спектрометром. В ОКТ не вычисляют функцию спектральной мощности сигнала $S(\omega)$, а используют зарегистрированную функцию автокорреляции сигнала $\Gamma(\tau)$ для выделения мощности отраженного или рассеянного излучения с определенной глубины образца, который помещается во второе плечо интерферометра. Это становится возможным благодаря свойствам функции автокорреляции сигнала $\Gamma(\tau)$: чем шире спектральный диапазон применяемого источника света, тем уже его функция автокорреляции. С помощью интерферометра, что очень важно, можно так же зарегистрировать интерференционную функцию спектральной мощности сигнала $S(\omega)$, которая позволяет вычислить функцию автокорреляции сигнала $\Gamma(\tau)$ от всей спектральной ширины источника и тем самым выделить мощность отраженного или рассеянного излучения с определенной глубины образца.

Оптическая когерентная томография может обеспечить высокую чувствительность обнаружения слабых отражений с различных глубин в тканях, потому что, основывается

на интерферометрии слабой когерентности и измеряет поле оптического луча, а не его интенсивность. Электрическое поле световой волны описывается выражением:

$$E(t) = E_i \cos\left(2\pi n t - \frac{2p}{l} z\right) \quad (1)$$

Когда два луча света объединяются, складываются их поля, а не интенсивности, и создается интерференция. На рис. 3,а показана схема простого интерферометра Майкельсона.

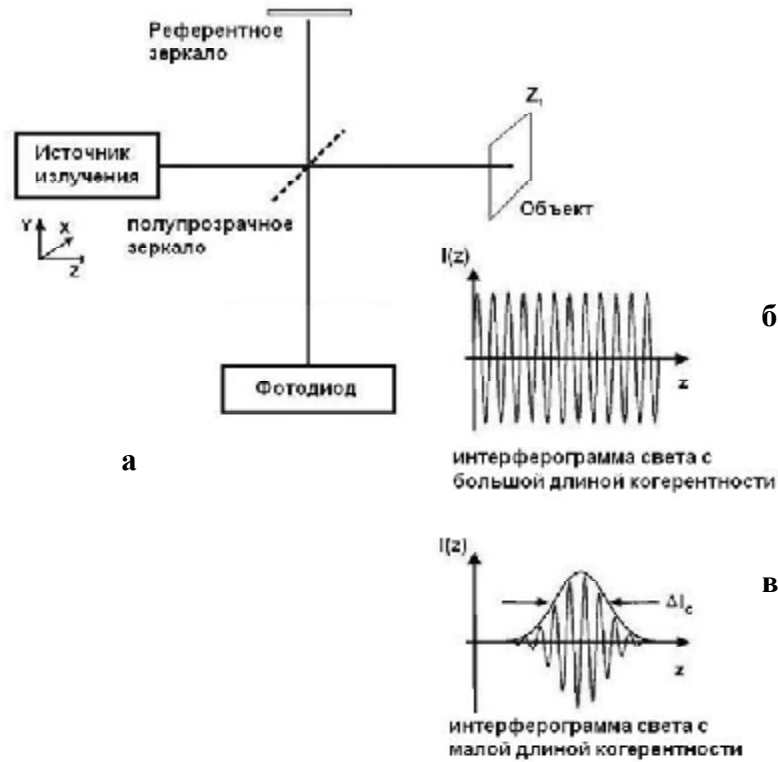


Рис. 3. Схематическое изображение интерферометра Майкельсона, на котором основывается значительная часть ОКТ систем (верхний рисунок). Осцилляции интерферометрического сигнала, регистрируемого фотодиодом, от источника с большой (верхний рисунок внизу справа) и малой (нижний рисунок внизу справа) длинами когерентности.

Оптические волны от источника направляются на светоделитель, который делит луч на рефератный луч и луч образца. Референтный луч $E_r(t)$ отражается от референтного зеркала, а луч образца $E_s(t)$ отражается от образца или ткани, т.е. перед тем как они создадут образ. Затем лучи объединяются на светоделителе и образуют интерференцию. На выходе интерферометра получается сумма электромагнитных полей из референтного луча и луча образца, отраженного от образца или ткани:

$$E_0(t) \approx E_r(t) + E_s(t) \quad (2)$$

Детектор измеряет интенсивность, выходящего из интерферометра, оптического луча, которая пропорциональна квадрату амплитуды электромагнитного поля. Если расстояние, которое проходит свет в референтном плече – l_R и расстояние, которое проходит свет, отраженный от образца, в плече образца, – l_S , то интенсивность на выходе интерферометра будет колебаться как функция от $\Delta l = l_R - l_S$:

$$I_0(t) \approx \frac{1}{4}|E_r|^2 + \frac{1}{4}|E_s|^2 + \frac{1}{2}E_r E_s \cos\left(2\frac{2p}{l}\Delta l\right) \quad (3)$$

Если положение референтного зеркала меняется, то изменяется длина пути, по которому перемещается оптический луч в плече образца. Если свет является очень когерентным (узкая спектральная линия) или что, тоже самое, имеет большую длину когерентности, интерферометрические осцилляции будут отмечаться в широком диапазоне изменения относительной разности хода пути в референтном плече и плече образца (рис. 3,б). Для построения ОКТ томографических образов применяются источники с малой длиной когерентности или что тоже самое с широкой спектральной полосой (рис. 3,в). Свет с малой длиной когерентности можно охарактеризовать его длиной когерентности (l_c). Длина когерентности обратно пропорциональна ширине полосы пропускания. Когда в интерферометре используется свет с малой длиной когерентности, то интерференция наблюдается только тогда, когда длина пути в объекте равна длине пути в референтном плече. Интерферометр измеряет поле автокорреляции света. Длина когерентности определяет разрешение.

Эффект высокой чувствительности ОКТ очевиден из уравнения (3), которое описывает интенсивность сигнала на выходе интерферометра. Осциллирующий интерференционный член является результатом рассеянного или отраженного электрического поля из образца (который может быть очень слабыми) перемножается с электрическим полем референтного луча. Так как луч от референтного зеркала может иметь гораздо большую амплитуду поля, слабое электрическое поле луча из образца умножается на большое поле, тем самым увеличивая масштаб осциллирующего интерференционного члена, который регистрируется детектором. Интерферометр таким образом производит гетеродинное усиление слабых оптических сигналов.

Отраженное или рассеянное оптическое эхо от образца регистрируется посредством электронной демодуляции сигнала от фотоприемника как функции перемещения референтного зеркала. В значительной части ОКТ систем, референтное зеркало перемещается с постоянной скоростью v , что производит доплеровский сдвиг отраженного света. Это модулирует интерференционный сигнал на частоте доплеровского сдвига $f_D = 2v/\lambda$, где v — скорость референтного зеркала. В зарегистрированном на этой частоте сигнале, может быть обнаружено присутствие эха от различных отражающих поверхностей в биологических образцах. Кроме того интересно отметить, что если свет отражается или рассеивается от движущихся структур, то этот световой сигнал также подвергается доплеровскому сдвигу и при этом обнаруживается его модуляция. Этот принцип используется для выполнения ОКТ измерений доплеровского потока.

Фундаментальные и технические ограничения и современный уровень развития ОКТ систем

Фундаментальные ограничения и современный уровень развития ОКТ систем, определяется основными техническими характеристиками:

- § осевое разрешение;
- § поперечное разрешение;
- § чувствительность;
- § скорость построения изображений.

Методы ОКТ так же как и другие оптические методы построения изображений используют оптический луч, который фокусируется на исследуемый объект. В отличие от обычной микроскопии, в ОКТ физически обусловленные причины, регулирующие осевое и поперечное разрешение изображения, являются независимыми. Осевое разрешение в ОКТ изображениях определяется длиной когерентности источника света, и высокое осевое разрешение может быть достигнуто независимо от условий фокусирования луча (см. рис.3). Длина когерентности — пространственная ширина поля автокорреляции, производимая интерферометром. Огибающая поля автокорреляции эквивалентна Фурье преобразованию спектральной мощности источника излучения. Таким образом, ширина автокорреляционной функции или осевое разрешение обратно пропорциональна ширине

спектра мощности. Для источника с гауссовым спектральным распределением, осевое разрешение δz равно:

$$dz = \frac{2 \ln 2}{p} \frac{I_0^2}{\Delta I} \quad (4)$$

где δz и $\Delta \lambda$ - полная ширина на половине максимума (ПШПМ) автокорреляционной функции и спектральной мощности источника, соответственно, и λ_0 - средняя длина волны источника излучения. Графически эта зависимость представлена на рис.4.

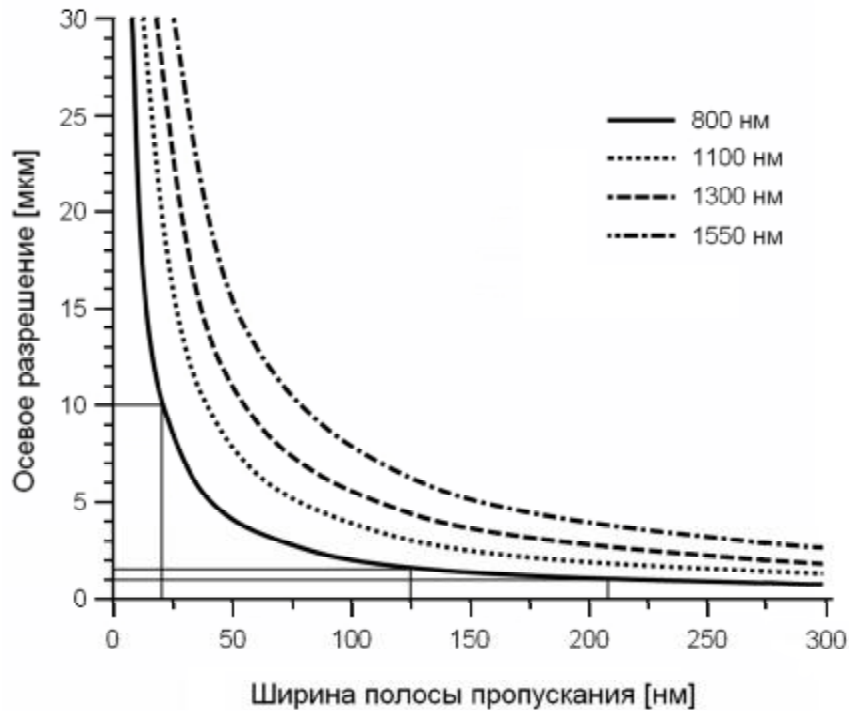


Рис. 4. Зависимость величины осевого разрешения от ширины полосы пропускания источника излучения.

Осевое разрешение прямо пропорционально средней длине волны и обратно пропорционально спектральной ширине источника света, и, таким образом, для достижения высокого осевого разрешения требуется источник с широкой спектральной полосой в коротковолновой области.

Поперечное разрешение ОКТ изображения определяется также как и для обычной оптической микроскопии: фокусирующими свойствами оптического луча. Размер пятна, в которое может быть сфокусирован оптический луч, обратно пропорционален числовой апертуре фокусирующего объектива. Поперечное разрешение равно:

$$\Delta x = \frac{4I_0}{np} \frac{f}{d} \quad (5)$$

где d - размер пятна на объективе и f - фокусное расстояние объектива. Высокое поперечное разрешение можно получить с помощью большой числовой апертуры и фокусирования луча в пятно небольшого размера. Поперечное разрешение связано также с глубиной фокуса или конфокальным параметром b , который равняется $2z_R$, удвоенному рэлеевскому диапазону:

$$2z_R = p \Delta x^2 / 2I \quad (6)$$

Таким образом, повышение поперечного разрешения приводит к уменьшению глубины фокуса, аналогично тому, как и в обычной микроскопии. На рис.5 схематически показана взаимосвязь между сфокусированным размером пятна и конфокальным параметром. Условия фокусирования луча позволяют рассматривать два возможных варианта, ограничивающих ОКТ изображения. Как правило, построение ОКТ изображения производится с малой числовой апертурой фокусирования, что бы иметь большую глубину резкости, а требуемое осевое разрешение достигается возможностями интерферометрии.

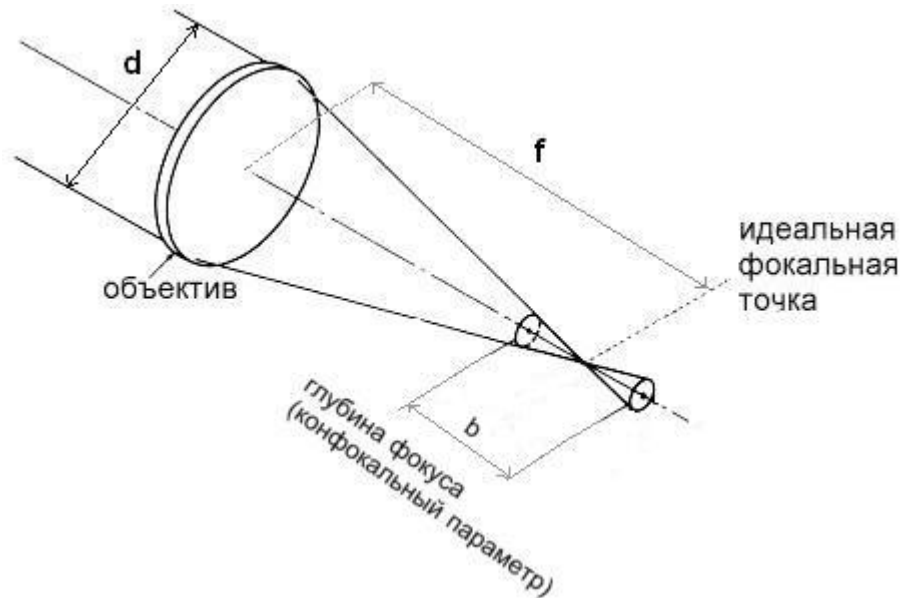


Рис. 5. Схематическое изображение взаимосвязи между сфокусированным размером пятна и конфокальным параметром.

В этом варианте конфокальный параметр, определяемый значением числовой апертуры, больше, чем длина когерентности, $b > \Delta z$. Осевое разрешение изображения определяется длиной когерентности, а поперечное разрешение - размером пятна. В противоположность обычной микроскопии этот режим работы достигает высокого осевого разрешения независимо от имеющейся числовой апертуры. Эта особенность является особенно мощным средством для таких приложений как получение образов в катетерной эндоскопии, где доступные числовые апертуры могут быть ограничены. Однако, работа с малой числовой апертурой приводит к низкому поперечному разрешению. Конфокальная микроскопия предлагают одно из лучших решений для построения изображений внутри сильно рассеивающей среды. ОКТ дополняет возможности конфокального микроскопа благодаря тому, что она использует интерферометрию. Во многих приложениях ОКТ предлагает более высокое разрешение по глубине и лучшую продольную функцию распределения излучения от точки по сравнению с существующими конфокальными микроскопами.

Можно сфокусировать излучение с большой числовой апертурой и достичь высокого поперечного разрешения за счет уменьшения глубины фокуса. Это типично для микроскопии высокого разрешения и конфокальной микроскопии высокого разрешения. В зависимости от длины когерентности излучения, глубина поля может быть короче длины когерентности, $b < \Delta z$. В этом случае глубина поля может использоваться для блокирования отраженных и рассеянных сигналов с других глубин. Этот режим работы может быть полезным для обработки изображений сильно рассеивающих образцов, потому что эффект конфокального блокирования в этом случае удаляет вклады рассеяния от передних и задних плоскостей более эффективно, чем когерентное

блокирование. Оптические методы построения томографических изображений при всех их различиях, основаны на общих физических особенностях: на ткань, которая является рассеивающим объемом, подается излучение, и регистрируется количество фотонов, рассеянных обратно на детектор как функция от длины пути в ткани. Как результат нескольких рассеиваний, фотоны, которые прошли одну и ту же длину оптического пути могут проходить вдоль различных траекторий, достигая различных глубин в объекте. Это влияет на неопределенность измерений по глубине. При сильном конфокальном блокировании, фотоны, которые рассеяны несколько раз и имеют низкую корреляцию между временем пролета и информацией о глубине, как правило, не попадают на детектор. При этом режиме измерений можно получить более эффективное блокирование вкладов рассеяния от передних и задних плоскостей, а следовательно более достоверную информацию об отражении. Кроме того, при этом режиме измерений получается более высокое поперечное разрешение, однако глубина поля будет ограничена. Для получения изображения в большем диапазоне глубин, необходимо перемещать сфокусированное пятно по глубине образца.

Чувствительность применяемого метода при построении томографических изображений представляет собой особенно важный параметр в биомедицинских изображениях. В ОКТ этот параметр определяет слабейший регистрируемый сигнал и описывается выражением:

$$K_{Sens} = 10 \ln \left(\frac{1}{R_{min}} \right) \quad (7)$$

где R_{min} - коэффициент отражения образца, при котором амплитуда интерференционного сигнала равна дисперсии шума, то есть отношение сигнал/шум $K_{SNR} = 1$. При определении чувствительности метода предполагается что $R_S \ll R_R$.

В общем случае отношение сигнал/шум ОКТ системы определяется выражением:

$$K_{SNR} = \frac{|A_c|^2}{S_S^2 + S_j^2 + S_{RIN}^2} \quad (8)$$

где $|A_c|^2$ — это значение квадрата амплитуды осциллирующего сигнала, σ_s^2 - дисперсия фототока, связанного с дробовым шумом, σ_j^2 - дисперсией фототока, связанная с шумами считывания, и σ_{RIN}^2 - дисперсия фототока, связанного с шумом относительной интенсивности.

Одним из главных источников шума в ОКТ системах является дробовый шум, который присутствует в ОКТ сигналах наряду с шумом считывания (ШС) и шумом колебания интенсивности света из самого источника света — так называемый шум относительной интенсивности (ШОИ). Оптимальная ситуация возникает, когда достигается уровень регистрации, ограниченный дробовым шумом. Дробовый шум имеет распределение Пуассона, и это связано с дискретным характером природы фототока, генерируемого полупроводниковым переходом в присутствии фотонов, попадающих на фотоприемник. Когда постоянная составляющая анализируемых сигналов (фон) отфильтровывается, дисперсия фототока равна значению корня квадратного из среднего квадратичного значения фототока (i_{rms})², который выражается следующей формулой

$$S_S^2 = (i_{rms})^2 = 2e^- i_{av} \Delta f \quad (9)$$

где e^- - заряд электрона, i_{av} - среднее значение фототока, зарегистрированного детектором, и Δf - электронная полоса пропускания детектора.

Основной компонентой шума считывания являются тепловые шумы: шум Джонсона, темновой шум и 1/f шум. Среди них наиболее важным является шум Джонсона, с дисперсией σ_j , выраженной следующей формулой:

$$S_j^2 = 4 kT \frac{\Delta f}{R} \quad (10)$$

где Δf - частотная полоса пропускания регистрирующего устройства, k — постоянная Больцмана, T -абсолютная температура и R -сопротивление регистрирующей электроники. Наиболее важной является зависимость от температуры: шум Джонсона обычно получает высокие значения при комнатной температуре.

К шуму ШОИ (RIN) относится любой шумовой сигнал, связанный с колебаниями интенсивности света, для которого дисперсия зарегистрированного фототока пропорциональна квадрату среднего значения фототока:

$$S_{RIN}^2 = B e^{-\bar{i}^2} \quad (11)$$

где B - обозначает коэффициент масштабирования, который зависит от механизма ответственного за колебания интенсивности света. Эти шумы, как правило, значительны для ОКТ СО систем с перестраиваемыми по частоте источниками излучения. Причины колебаний интенсивности могут быть многочисленными. Например, изменения интенсивности, связанные с усилением спонтанного излучения; или колебания, вызванные генерацией света в полости активной среды (кристаллы или полупроводники); или случайные колебания фазы в настройках интерферометра.

На практике оптимальное SNR устанавливается в ситуации, в которой дробовый шум начинает доминировать.

Методы ОКТ

Методы ОКТ можно разделить на два класса, основанных на измерении во временной области (ОКТ ВО) [1] или на измерении в спектральной области (ОКТ СО)[2]. Как ОКТ ВО, так и ОКТ СО используют широкополосный источник света в интерферометрической установке. Для измерения вдоль оси (ось z) от поверхности в объем объекта (А-скан) в ОКТ ВО референтное зеркало должно сканировать по глубине (рис. 6). Интерференционный контраст обнаруживается только если длина пути в объекте равна длине пути в референтном плече. Длина пути регистрируемых фотонов может быть скорректирована длиной пути в референтном плече. В ОКТ ВО рассеивающие особенности образца измеряются последовательно. Таким образом, свет, рассеянный от каждой особенности (уплотнения) вносит вклад в интерференционный сигнал только если расстояние между референтной плоскостью и особенностью меньше длины когерентности. Используется только часть света, которая рассеивается обратно в течение всего времени измерения. В методе ОКТ СО нет необходимости сканирования по глубине. Системы ОКТ СО регистрируют информацию по глубине методом спектральной интерферометрии. Для систем этого типа существует два подхода. Свет от широкополосного источника подается на вход интерферометра. На выходе интерферометра он пространственно разлагается по спектру, и весь спектр регистрируется массивом фотоприемников (рис.7), то есть ОКТ СО с регистрацией в пространственной области – ОКТ СО ПР. В другой модификации спектральное разложение может быть обеспечено перестройкой по частоте во времени, и может регистрироваться одним фотоприемником (рис. 8) – ОКТ СО ВР . Свет, рассеянный от каждой особенности в образце в пределах просматриваемого объема вносит вклад в интерференционный сигнал в течение всего времени измерения. Метод ОКТ СО обеспечивает большую чувствительность и более высокую информационную эффективность по сравнению с системами ОКТ ВО [3]. Последнее преимущество обеспечивается существенно большим числом разрешимых элементов в спектре, а соответственно и в измеряемом распределении по глубине образца, которое может достигать значений 100 – 300. Дополнительным преимуществом этого метода является то, что появляется возможность отделить зависимость осевого разрешения (определяемого как разрешающая сила системы построения изображения в направлении, параллельном зондирующему лучу света) от скорости построения изображения. Все это дает

возможность увеличить скорость построения образа по глубине без потери качества по сравнению с ОКТ ВО.

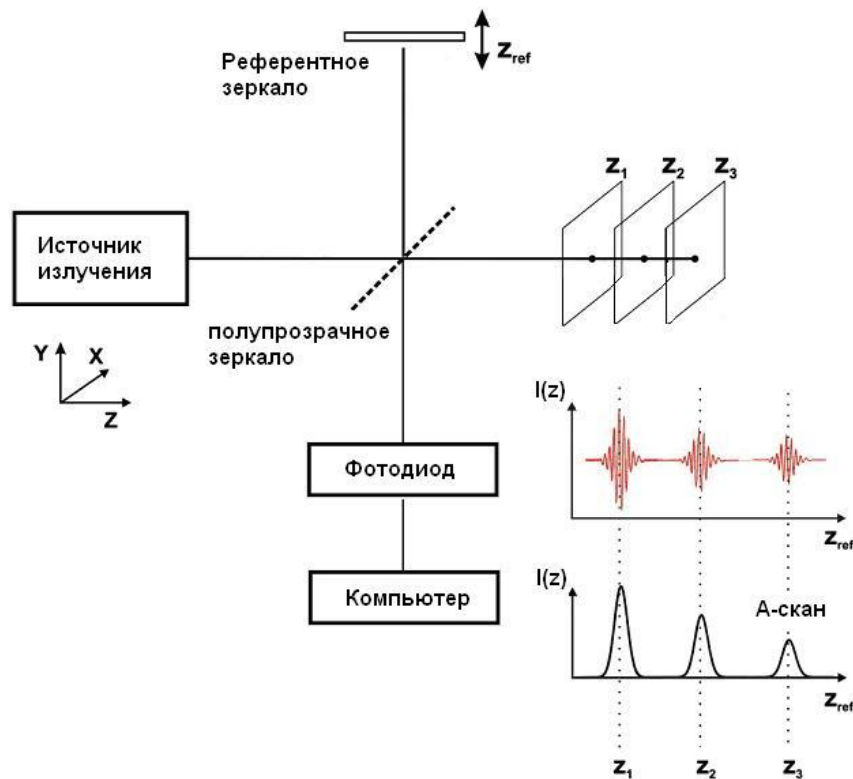


Рис.6. Упрощенная схема построения изображения в ОКТ ВО. Источник излучения – широкополосный источник (источник с малой длиной когерентности). Z_1, Z_2, Z_3 – виртуальные плоскости сечения по глубине образца.

Принцип измерения ОКТ СО основан на спектральной интерферометрии. Сигнал от объекта состоит из многих элементарных волн, исходящих из различных глубин z . Если пренебречь дисперсией в объекте и обозначить амплитуду рассеяния элементарных волн в зависимости от глубины как $a(z)$, а амплитуду референтной волны как a_R , то на выходе из интерферометра имеем ряд дискретных интерференционных сигналов $I(k)$, разложенных по длинам волн $k = 2\pi/\lambda$. Интерференционный сигнал $I(k)$ равен:

$$I(k) = S(k) \left[a_R e^{i2kr} + \int_0^{\infty} a(z) \exp\{i2k[r + n(z)z]\} dz \right]^2 \quad (12)$$

где $2r$ – длина пути в референтном плече;

$2(r + z)$ - длина пути в плече образца;

$2z$ - длина пути в плече образца, измеренная от референтной плоскости;

n – показатель преломления ($n = 1$ для в воздухе и $n \approx 1,5$ в образце);

a_R – амплитуда в референтном плече;

$a(z)$ – амплитуда рассеянного сигнала образцом ($a(z) = 0$ в воздухе);

$S(k)$ – спектральное распределение интенсивности источника света.

Спектральный ОКТ

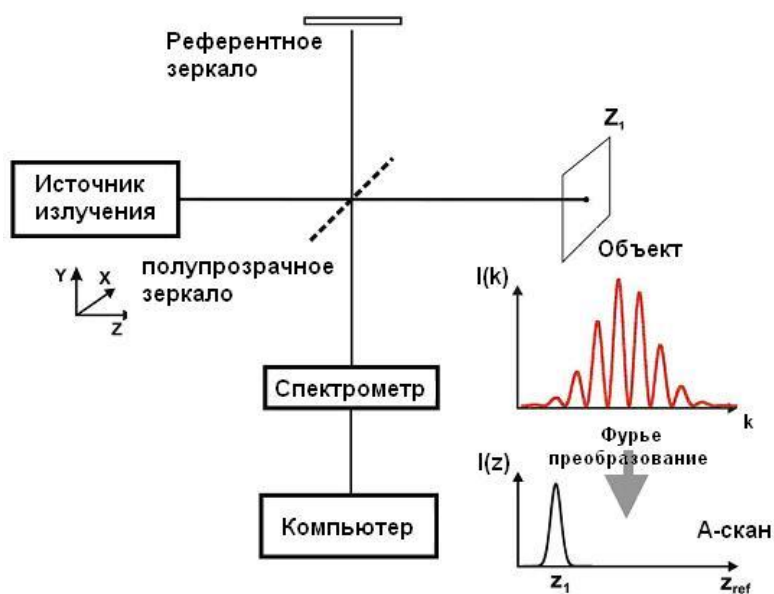


Рис.7. Упрощенная схема построения изображения в ОКТ СО ПР

ОКТ с перестраиваемым источником

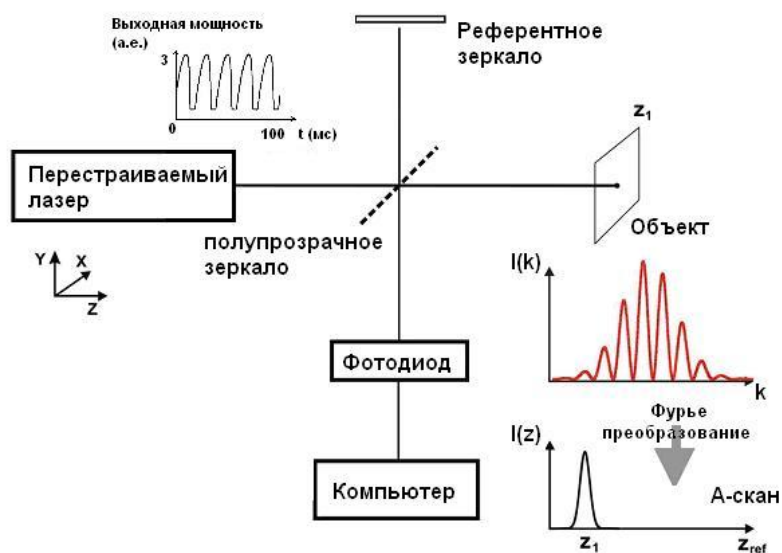


Рис.8. Упрощенная схема построения изображения в ОКТ СО ВР

При принятых допущениях сигнал $I(k)$ описывается выражением

$$I(k) = S(k) \left[1 + \int_0^{\infty} a(z) e^{i2knz} dz \right]^2 \quad (13)$$

или

$$I(k) = S(k) \left[1 + 2 \int_0^{\infty} a(z) \cos(2knz) dz + \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} a(z) a(z') e^{-i2kn(z-z')} dz dz' \right]^2 \quad (14)$$

Можно видеть, что интерферограмма $I(k)$ – это сумма трех членов. Первый член – константа. Второй член кодирует информацию по глубине объекта; это сумма косинусных функций, где амплитуда каждой косинусной функции пропорциональна амплитуде рассеяния $a(z)$. Глубина z рассеяния закодирована в частоте косинусной функции $2nz$. Амплитуда рассеяния $a(z)$ может быть получена через Фурье преобразование интерферограммы. Третий член (автокорреляционный) описывает взаимную интерференцию всех элементарных волн. Главной особенностью всех ОКТ СО является то, что общее распределение амплитуды рассеяния $a(z)$ вдоль одного А-скана измеряется одновременно. Свет, рассеянный от каждой особенности в объеме вносит вклад в интерференционный сигнал в течение всего времени измерения.

Высокоскоростные методы ОКТ

Основной мотивацией для научно-исследовательских работ в области ОКТ последнее десятилетие, является идея улучшения клинического применения этого метода путем увеличения разрешения и скорости регистрации оптических изображения. Это позволит разработать новые методики, позволяющие раннюю диагностику морфологических изменений больных тканей в медицине.

Последние технологические достижения в разработке и производстве высокоскоростных CCD и CMOS камер с одной стороны, а так же высокоскоростных перестраиваемых (swept) лазеров с другой стороны вызвали стремительное развитие двух альтернативных ОКТ систем СО. Это подтверждают статистические данные, показывающие, что, за 18-летнюю историю развития ОКТ методов, примерно 50% всех рецензированных статей по ОКТ тематике появились в последние три года (основанный на ISI Web of Science) [4].

Среди этих двух подходов регистрации изображений в частотной области скорость регистрации в ОКТ Фурье области ограничена скоростью регистрации массивом данных детекторами CCD CMOS камер [6], которая обычно составляет от 10 до 100 кГц. Другими словами существует компромисс между спектральным разрешением и частотой осевого сканирования. С другой стороны в ОКТ СО ПИ не требуется оптический спектрометр потому, что длина волны известна для каждого измерения, что приводит к более высокой скорости осевого сканирования, чем в ОКТ СО ПР вплоть до 100 кГц [4]. Однако ширина спектральной полосы, следовательно, осевое разрешение ограничивается диапазоном перестройки лазера и мгновенной шириной линии, ограничивающей диапазон по глубине.

Современные ОКТ СО ВР системы, использующие перестраиваемый по спектру источник излучения (swept лазер), достигают сверхбыстрой скорости перестройки, Лазер имеет область спектральной перестройки более 100 нм на средней длине волны 1300 нм и позволяет достигать осевое разрешение изображения ~10 мкм. В отличие от ОКТ СО ПР в них может применяться большая спектральная мощность источника излучения и за счет этого повышаться скорость регистрации. Слабым местом этой конфигурации является сильная зависимость от дисперсии резонатора, что делает ее трудно применимой на длинах волн короче 1 мкм при существующих волоконно-оптических технологиях. Очевидно, что такие ОКТ системы не позволяют в настоящее время проводить измерения на живой сетчатке с высоким осевым и пространственным разрешением, хотя за счет высокого быстродействия позволяют проводить предварительные исследования.

Повышение скорости регистрации изображений живой сетчатки с высоким осевым и пространственным разрешением методами ОКТ, представляется возможным с помощью параллельной регистрации всех точек изображения, то есть регистрация полного поля

(ПП) изображения. Из литературных источников известны ОКТ СО ПР ПП. Однако в экспериментальных установках в качестве перестраиваемого фильтра применялся оптоволоконный фильтр Фабри-Перо. Высокое спектральное разрешение этого фильтра (малая оптическая мощность на приемную площадку) и не высокая чувствительность применяемой видеокамеры не позволили получить высокую скорость регистрации. Более предпочтительным представляется вариант с фильтрацией широкополосного излучения с помощью акустооптического фильтра [5], который позволяет работать как с лазерным излучением, так и с суперлюминисцентными диодами, а так же и с обычными широкополосными источниками излучения, которые в настоящее время имеют наименьшее влияние на уровень фона за счет перекрестного наложения излучения.

Основными ограничениями скорости регистрации изображений в ОКТ СО ВР ПП в настоящее время являются допустимая мощность источников излучения. Частота кадров видеокамер определяется скоростью считывания и зависит от размера кадра в пикселях. Максимальная частота кадров современных камер - 500 кадров/с при размере изображения 512×100 пикселей (EM CCD Camera C910, Hamamatsu или Andor's iXon DV887 EM CCD). Если ограничить число кадров до 100 (количество пикселей по глубине), то получим скорость 5 изображений/с. Так как регистрация идет параллельно, то один А-скан регистрируется с частотой кадров камеры ~ 500 кадров/с или 2 мс. При такой скорости регистрации достаточно мощности 60 пВт на один пиксел, чтобы проводить регистрацию, ограниченную дробовым шумом. Максимальная мощность ксеноновой лампы $\sim 2,3$ мВт, что позволяет собрать мощность на детекторе ~ 20 мкВт в спектральном диапазоне ~ 100 нм. Если разбить этот спектральный диапазон на 100 интервалов со спектральным разрешением 1 нм, то получим мощность в каждом интервале ~ 200 нВт. Тогда количество пикселей, на которые может быть распределена эта мощность, составляет ~ 3300 , что позволит регистрировать одновременно матрицу пикселей, например, 60×55 и соответственно объем изображения $60 \times 55 \times 100$. Оснащение такой системы адаптивной оптикой позволит увеличить количество одновременно регистрируемых пикселей.

Большинство существующих ОКТ СО систем строятся в ХZ конфигурации (Z является оптической осью) и слабо фокусируют луч на образец (малая численная апертура фокусирующей оптики). Такая конфигурация использует компромисс между продольным (Z) и поперечным разрешением (X). В системах с малой численной апертурой, длина когерентности применяемых оптических источников излучения в основном определяет разрешение по глубине, которое обычно порядка 10 мкм. Кроме того, такие системы практически исчерпали резервы повышения быстродействия. Ограничение скорости формирования объемных образов в ОКТ СО определяется необходимостью сканирования измерительного луча в поперечном направлении по двум координатам. Использование механических систем сканирования, которым пока нет альтернативы, приводит к значительным трудностям в достижении высокой скорости сканирования.

Вариант ОКТ, опирающийся на фронтальную конфигурацию (XY), которая применяет объективы с более высокой численной апертурой, получило название оптической когерентной микроскопии (ОКМ). Такие системы используют полное поле освещения, параллельную регистрацию всех точек изображения и позволяют получать изображения с высоким разрешением (менее 1 мкм), ограниченным дифракционным пределом.

Чем больше числовая апертура объектива, тем уже огибающая функции рассеяния точки. Так, например, для измерений в воздухе ($n = 1$), с числовой апертурой $NA = 0,95$ и длиной волны $\lambda = 840$ нм, полная ширина на половине высоты (ПШПВ) функции рассеяния точки составляет 0,6 мкм. Эффект большой числовой апертуры объектива может значительно улучшить разрешение, определяющееся длиной когерентности оптических источников, и тем самым значительно снизить неопределенность измерений

по глубине, характерную для традиционных ОКТ СО систем. Однако такие системы так же не обладают желаемым быстродействием, так как применяют механическое сканирование по глубине.

Преодолеть проблему не достаточного быстродействия в микроскопии полного поля можно только устранив механическое сканирование по глубине. Однако, схема полного поля не может быть применена в системах ОКТ СО ПР, так как в них используется линейка детекторов для разделения по частотам. Параллельная версия ОКТ СО ПР была продемонстрирована с помощью линейного поля освещенности [5]. Точки вдоль линии освещения были сфокусированы на CCD детектор, раскладывая спектральные интерферограммы вдоль оси, перпендикулярной спектральной дисперсии. Эта конфигурация использовала всю поверхность CCD детектора, но параллельная реализация ограничивалась линейным полем. Два типа источника света, суперлюминесцентный диод (СЛД) и тепловая вольфрамовая галогенная лампа сравнивались в этой работе, чтобы оценить, как их свойства пространственной когерентности влияют на поперечное и осевое разрешение. Выбранная оптика позволяла передавать изображение области образца и вертикальным размером плоскости CCD матрицы в соотношении один к одному. Максимальное теоретическое поперечное разрешение равнялось 50 мкм. Важно отметить, что поперечное разрешение теплового источника света находилось в полном соответствии с теоретическим пределом, тогда как для СЛД оно почти в два раза хуже. Это объяснялось перекрестными помехами в случае СЛД. Пространственная не когерентность теплового источника света обеспечивает эффективный механизм для подавления перекрестных помех. Тем не менее, мощность теплового источника света была в четыре раза меньше, чем СЛД. Полная мощность СЛД равнялась 2 мВт и позволяла оптическую мощность 8 мкВт на поперечный канал (2 мВт, деленное на 250 линий CCD). При этом мощность на один пиксель равнялась ≈ 15 нВт с полосой $\Delta\lambda \approx 0,03$ нм. Теоретический анализ после проведенных экспериментальных измерений показал, что с мощностью 15 нВт, возможно достичь ограниченную дробовым шумом чувствительность 96 дБ с временем экспозиции 1 мс в ОКТ СО ПР системе. Экспериментальная чувствительность системы равнялась 89 дБ. Увеличение уровня фона из-за когерентных и некогерентных перекрестных помех могло привести к разнице измеренной чувствительности и теоретического значения. Так же было показано, что увеличение некогерентного фона сильно влияет на чувствительность системы и динамический диапазон. Кроме того только 7 мм от полной длины линии освещенности 12 мм в действительности отражались на CCD, что дополнительно уменьшало эффективную чувствительность системы.

В НТЦ уникального приборостроения РАН ведутся работы по созданию оптического когерентного томографа для офтальмологии. Нами предложена новая концепция построения ОКТ: схема полного поля и оптическая фильтрация широкополосного излучения с помощью программно-управляемого акустооптического фильтра [8]. Выбор локальной области по глубине образца осуществляется посредством перемещения объектива в референтном плече и плече образца. Далее производится сканирование по спектру с высокой скоростью с помощью быстро перестраиваемого акустооптического монохроматора. Данная концепция может обеспечить получение объемных томографических образов со скоростью видеоканалов и разрешением на клеточном уровне. В настоящее время изготовлен макетный образец, исследуются его возможности и способы повышения его чувствительности и быстродействия.

Заключение

Результаты, полученные в работах [5,6] показывают резервы в повышении чувствительности и сокращении времени измерения. Очевидна низкая квантовая эффективность детектора $\rho = 0,04$. В современных камерах (EM CCD Camera C910,

Hamamatsu или Andor's iXon DV887 EM CCD) квантовая эффективность достигает значения 90%. Это позволяет повысить чувствительность более чем в 20 раз. Кроме того, расширение мгновенной ширины спектральной линии до 2-5 нм (разумное разрешение акустооптических фильтров) позволит еще в 30 – 80 раз повысить чувствительность и сократить время измерения как минимум в 10 раз (сокращается количество регистрируемых кадров до 100). Уменьшение количества рабочих пикселей (посредством их объединения) в 10 раз, позволит во столько же раз повысить чувствительность и во столько же раз сократить время регистрации (современные видеокамеры позволяют). В результате можно сократить общее время регистрации до 50 мс с чувствительностью, ограниченной дробовым шумом, что позволит устранить погрешности измерения, связанные с произвольным движением объектов, хотя и с некоторой потерей регистрируемого объема информации. Дальнейшее совершенствование технологии видеокамер позволит увеличить и этот показатель. Это, безусловно, идеальный вариант для реализации которого необходимо выйти на режим регистрации, ограниченный квантовым шумом. Вероятно для этого потребуется регистрация в двух поляризациях на две матрицы детекторов. На этой основе потребуется обеспечить дифференциальный режим измерения с контролем фазы и фазовой подстройки измеряемого сигнала. Кроме того потребуется адаптивная оптика, позволяющая устранять aberrации как объекта измерения, так и измерительной оптики.

Настоящая статья подготовлена при поддержке гранта № 8386 Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».

Список литературы

1. D.Huang, E.A.Swanson, C.P.Lin, J.S.Schuman, W.G.Stinson, W.Chang, M.R.Hee, T.Flotte, K.Gregory, C.A.Puliafito, J.G.Fujimoto, "Optical coherence tomography", *Science* **254**, 1178-1181 (1991).
2. A.F.Fercher, C.K.Hitzenberger, G.Kamp, S.Y.Elzaiat, "Measurement of intraocular distances by backscattering spectral interferometry", *Opt. Commun.* **117**, 43-48 (1995).
3. Ю. Т. Мазуренко. Информационная теория оптической когерентной томографии. В сб. статей Проблемы когерентной и нелинейной оптики // Под ред. И.П. Гурова и С.А.Козлова. СПб: СПбГУ ИТМО. 2008. С. 30-51.
4. M. Wojtkowski, "High-speed optical coherence tomography: basics and applications" *Appl. Opt.*, Vol. 49, No. 16, D30-D61 (2010).
5. B. Grajciar, M. Pircher, A. F. Fercher, and R. A. Leitgeb, "Parallel Fourier domain optical coherence tomography for in vivo measurement of the human eye," *Optics Express* 13(4), 1131 (2005).
6. M.V. Sarunic" Advanced systems design for Fourier domain optical coherence tomography", Dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in the Department of Biomedical Engineering in the Graduate School of Duke University, (2006)
7. В.И.Пустовойт, В.Э.Пожар, А.В.Висковатых, С.В.Боритко. Разработка оптического когерентного фурье-томографа на быстроперестраиваемых акустооптических источниках излучения // Альманах клинической медицины. Т.17, ч.1, с.221, Москва, 2008.
8. А.В.Висковатых, В.Э.Пожар, В.И.Пустовойт. Разработка оптического когерентного томографа для офтальмологии на быстроперестраиваемых акустооптических фильтрах // Сборник материалов 3-его Евразийского конгресса по медицинской физике и инженерии "Медицинская физика -2010". Т.4, с. 68-70. Москва, 2010.