

С.Г. Проскурин, С.В. Фролов

## ВИЗУАЛИЗАЦИЯ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ ПРИ ПОМОЩИ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ

### Аннотация

Разработаны новые методы оптической когерентной томографии (ОКТ) – современного средства неинвазивной неионизирующей диагностики биомедицинских объектов, предназначенной для исследования поверхностных слоев кожи и подкожных кровеносных сосудов *in vivo*. Описанные модификации позволяют использовать суперлюминесцентный диод малой мощности (до 0,2...0,4 мВ), а также применять несколько длин волн одновременно. Метод растрового сканирования и растрового усреднения в плече образца интерферометра позволяет дополнительно увеличить соотношение сигнал/шум на 4...10 дБ.

Оптическая когерентная томография (ОКТ) возникла в конце 80-х – начале 90-х годов XX века [1]. В начале XXI века она заняла прочное место в ряду медицинских диагностических методов. ОКТ использует оптический сигнал, отраженный от поверхностей различной оптической плотности, и во многом аналогична ультразвуковой (УЗИ) диагностике. Глубина зондирования систем ОКТ составляет 1...2 мм, что существенно меньше, чем у систем УЗИ [2], [3] и рентгеновских приборов [4]. Из-за сильного рассеяния оптического излучения в биотканях ОКТ-системы применяются преимущественно для исследования роговицы, стекловидного тела и сетчатки глаза. Однако разрешение таких систем ОКТ на 1-2 порядка превышает разрешение систем УЗИ для аналогичных исследований, которое составляет ~1 мм, а в новейших системах – до 0,1 мм [2].

ОКТ использует принципы сканирующей низкокогерентной интерферометрии [1] (интерферометр Майкельсона). Низкая когерентность непрерывного источника излучения – фемтосекундного лазера или суперлюминесцентного диода (СЛД) – обеспечивается широкой спектральной полосой  $\Delta\lambda$ , что дает высокое пространственное разрешение  $\Delta z$  в зондирующем плече по глубине сканирования [1], [5]:

$$\Delta z = \frac{2 \ln(2)}{\pi} \frac{\lambda^2}{\Delta\lambda} \approx 0,44 \frac{\lambda^2}{\Delta\lambda}.$$

Локализация продольной компоненты измерительного объема при использовании СЛД с длиной волны  $\lambda = 800...1700$  нм и  $\Delta\lambda = 20...100$  нм достигает  $\Delta z \sim 5000...15000$  нм [1], [5]. Такой короткий когерентный пакет соответствует 15...50 фс ( $10^{-15}$  с) импульсного лазера. В приложении к биологическим объектам методы ОКТ дают возможность визуализации сильно рассеивающих тканей (дерма, эпидермис) с указанным разрешением на глубину 1...1,2 мм.

С практической точки зрения важно отметить, что из-за малых коэффициентов рассеяния тканей глаза широкое распространение получили офтальмологические ОКТ-приборы, мировой рынок которых оценивается сотнями миллионов единиц в год. Поэтому вместо ОКТ часто используют на-

именование «ретинотомограф для исследования сетчатки глаза». В то же время системы и приборы для исследования кожи и подкожных кровеносных сосудов до недавнего времени практически отсутствовали.

Цель настоящей работы – на основе методов ОКТ разработать экспериментальные методы исследования поверхностных слоев кожи и подкожных кровеносных сосудов человека *in vivo*. Для этого, используя принципы низкокогерентной рефлектометрии и ОКТ, необходимо максимально увеличить глубину когерентного зондирования (до 1,5...1,8 мм) в сильно рассеивающих средах (биологических тканях) с редуцированным коэффициентом рассеяния  $0,5...1,5 \text{ мм}^{-1}$ .

### Определение пространственного разрешения при когерентном зондировании

ОКТ-методики, как правило, основаны на применении схемы сканирующего интерферометра Майкельсона, выполненного на базе одномодовых световодов [1], [5]. При использовании в опорном плече интерферометра оптической линии задержки (ОЛЗ), основанной на дифракционной решетке и угловом сканировании зеркала – RSOD (Rapid-scanning Optical Delay), полоса пропускания фильтра усилителя сигнала  $\Delta f$  увеличивается в 4 раза. Соотношение для  $f_o$  – несущей частоты ОЗЛ – тоже меняется [6]:

$$f_o = \frac{4\Delta x}{\lambda} \frac{d\alpha}{dt},$$

где  $\Delta x$  – смещение оси сканирующего зеркала;  $\lambda$  – длина волны излучения СЛД;  $d\alpha / dt$  – угловая скорость сканирования зеркала.

Частота RSOD достигает нескольких килогерц, что позволяет получать ОКТ-изображения со скоростью десятков изображений в секунду. Несущая частота и увеличение ее ширины при этом становятся очень большими, что уменьшает разрешение и глубину когерентного зондирования. Увеличить контраст изображения посредством обычной фильтрации при высоких скоростях сканирования не представляется возможным. Уменьшение несущей

частоты до нескольких десятков килогерц (в описанном эксперименте – 25 кГц) позволяет отстроиться от низкочастотного шума  $1/f$  и избежать влияния нарастающего белого шума на высоких частотах. Таким образом, несущая частота попадает в минимум указанных шумов.

Кроме того, уменьшение размеров и фокусных расстояний модифицированной RSOD позволило существенно снизить интенсивность источника излучения – СЛД [6], [7], что привело к уменьшению соотношения сигнал/шум (С/Ш) на 5...8 дБ. Растровое сканирование и последовательное растровое усреднение в плече образца дали дополнительное уменьшение соотношения С/Ш на 4...10 дБ [7], [8]. Это впервые позволило увеличить глубину когерентного зондирования кожи человека до 1,5...1,7 мм и, следовательно, визуализировать подкожные кровеносные сосуды человека диаметром  $\sim 1$  мм.

Необходимо отметить, что наибольшая глубина проникновения излучения в биологической ткани достигается на длине волны  $\sim 1300$  нм. К тому же дисперсия фемтосекундного пакета короче 3 мк в биологической ткани только уменьшает глубину зондирования. ОКТ-изображения поперечного сечения кончика пальца и папиллярных линий, полученных на различных длинах волн от 800 до 1500 нм, показаны на *рис. 1*. Заметим, что ОКТ-изображение с быстрым сканированием и  $\lambda = 1500$  нм [7] было получено нами впервые (*рис. 1б*).

Для визуализации подкожных кровеносных сосудов использовали СЛД с  $\lambda \approx 1300$  нм. На этой длине волны оптическое ИК-излучение имеет наибольшее проникновение.

### Материалы и методы исследований

В экспериментальной установке (*рис. 2*) излучение СЛД ( $\lambda = 1298$  нм,  $\Delta\lambda = 52$  нм) поступает в разветвитель световодов 50x50 %, FS1, и далее – на второй разветвитель световодов 50x50 %, FS2.

Из второго разветвителя половина излучения поступает в опорное плечо интерферометра, другая половина – в плечо образца и фокусируется на образце при помощи системы линз. Отраженное от обоих плеч интерферометра излучение смешивается на балансных квадратичных фотоприемниках D1 и D2. После балансной схемы электрический сигнал поступает на полосовой фильтр, затем на спек-

троанализатор и на аналого-цифровой преобразователь (АЦП). После АЦП цифровой сигнал записывается и обрабатывается на компьютере.

Быстро сканирующая оптическая линия задержки была разработана для изучения формы и длины ультракоротких лазерных импульсов, что предполагает использование источников излучения большой мощности. В работах [7], [8] впервые описано построение RSOD таким образом, чтобы интенсивность излучения, приходящаяся на каждое плечо интерферометра, была  $\sim 10^{-4}$  Вт. Дальнейшее уменьшение интенсивности СЛД уравнивает электрические шумы усилителя с шумами, которые определяются источником излучения. Это уже не дает дополнительного увеличения соотношения С/Ш. Усовершенствованная линия задержки позволяет использовать обе длины волны (1300 и 1500 нм) одновременно. Использование двух длин волн необходимо для получения дифференциальных изображений и определения оксигенации-дезоксигенации гемоглобина в тканях и цельной крови. Это очень важно с практической точки зрения, так как позволяет реализовать дифференциальную диагностику биообъектов за одно сканирование. Незначительной перестройкой угла наклона дифракционной решетки RSOD можно добиться дополнительного увеличения контраста изображения на 10...15 % и проводить дифференциальные исследования последовательно за два сканирования. Очевидно, что возможно использовать и другие длины волн в этом промежутке длин волн.

Для получения 2-координатного изображения сканирование в плече образца (*рис. 2*) также осуществляется при помощи гальваносканера (ГС). Использование такого растрового сканирования, в отличие от сканирующего перпендикулярно предметного столика, позволяет сделать систему дистанционной и осуществить растровое усреднение в пределах одной вертикальной линии изображения (А-скан). Такой подход позволяет уменьшить не только стандартные шумы оптоэлектронного преобразования, но и оптические шумы, проявляющиеся на изображении в виде пятен (спекл-шумы), которые в данном случае возникают в новой геометрии перпендикулярно излучению, но каждый раз с разными углами.

Уменьшая числовую апертуру  $NA$  и увеличивая конфокальный параметр до размера, совместимого с

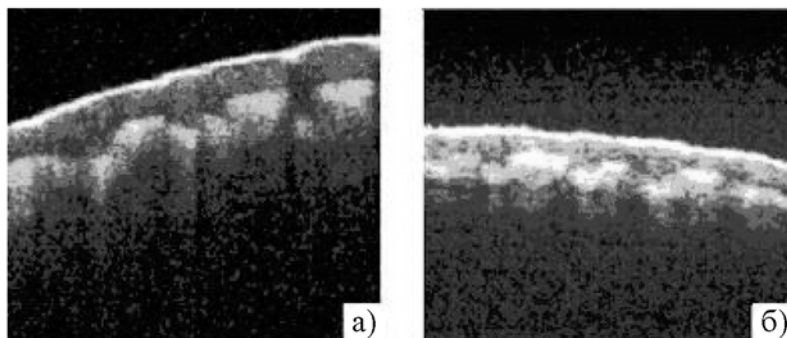


Рис. 1. ОКТ-изображение пальца человека *in vivo* (поперечное сечение кожи и папиллярных линий); получено при использовании ОКТ с длиной волны  $\lambda = 840$  нм: а) ОКТ с длиной волны  $\lambda = 1482$  нм; б) размер изображений  $2 \times 2$  мм<sup>2</sup>

глубиной проникновения сигнала (1...3 мм), увеличиваем диаметр перетяжки луча до 0,03...0,08 мм [8]:

$$\omega = \frac{1,22\lambda}{2NA}.$$

Кроме того, при уменьшении числовой апертуры фокусирующей оптики удается избежать попадания в детекторы многократно рассеянных фотонов под большими углами и выделить только отраженную и обратно рассеянную компоненту, которая и несет информацию о структуре биообъекта.

Записанные интерферограммы сигнала представляют собой 100...200 вертикальных линий. Каждая линия обрабатывается при помощи быстрого преобразования Фурье. Так как разность хода плеч сканирующего интерферометра меняется непрерывно при сканировании оптической линии задержки, теоретически окно преобразования Фурье должно также смещаться непрерывно, т. е. на одну точку, но это делает обработку сигнала довольно

долгой (порядка нескольких минут). Эмпирически было показано, что обработка сигнала со сдвигом окна на 20...30 % дает такой же контраст изображения, как и с непрерывным сдвигом – в одну точку. Это занимает 2...5 с при использовании процессора «Pentium 4» с тактовой частотой 2,4 ГГц. Применяя специализированное программное обеспечение, это время можно сократить до 1 с [10]. Такой подход обеспечивает получение изображений в реальном времени и визуальную обратную связь при исследовании живого объекта.

## Результаты и обсуждение

Описанным выше методом впервые удалось получить изображение подкожных кровеносных сосудов диаметром  $\sim 0,2...1$  мм около тройника кровеносных сосудов на глубине  $\sim 1...1,7$  мм (рис. 3).

На рис. 4 представлен кровеносный сосуд пальца человека, расположенный на глубине 1...1,7 мм, до (рис. 4а) и после оптического просветления

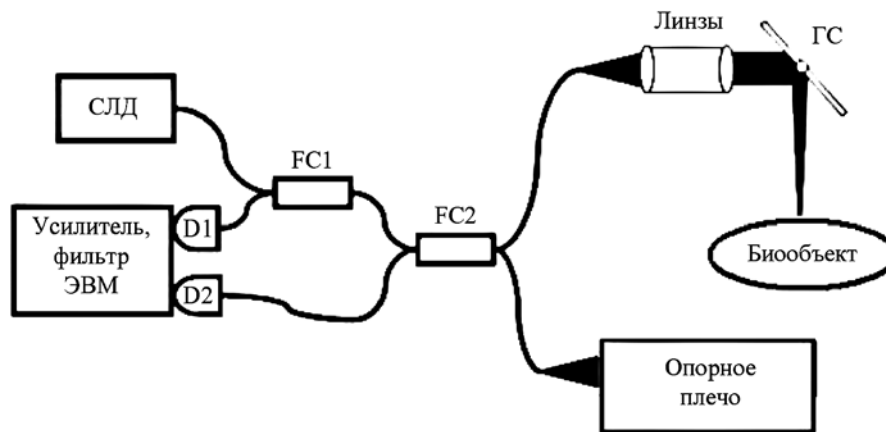


Рис. 2. Схема оптического когерентного томографа (ОКТ), выполненного на базе одномодовых световодов: СЛД – суперлюминесцентный диод; FS1, FS2 – 1x2 и 2x2 разветвители световодов, в опорном плече находится сканирующая оптическая линия задержки; ГС – гальваносканер; D1, D2 – инфракрасные приемники излучения, включенные в балансную схему

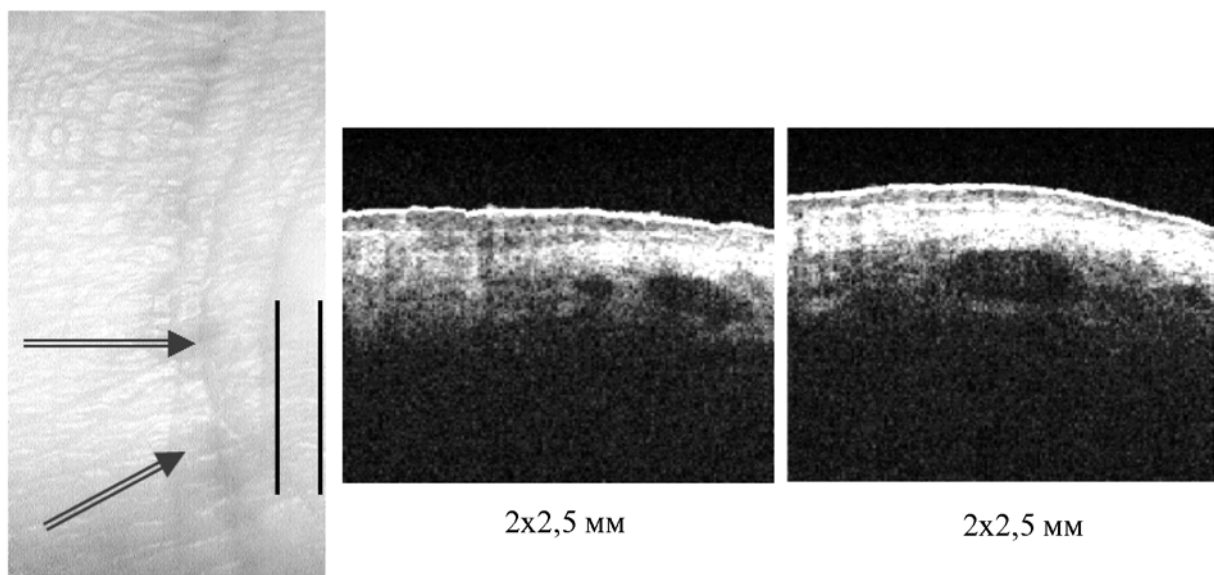


Рис. 3. ОКТ-изображения кожи и кровеносных сосудов пальца человека около Y-тройника *in vivo*. Длина волны СЛД  $\lambda = 1298$  нм. Размер изображений 2x2,5 мм<sup>2</sup>

(рис. 4б). На рис. 4а представлено изображение кровеносного сосуда, полученное с частотой сканирования 80 Гц, что соответствует времени детектирования  $\sim 2,2$  с при считывании каждой следующей линии (четной или нечетной) и  $\sim 1,1$  с при считывании обеих линий (четной и нечетной). Увеличение частоты сканирования возможно до нескольких килогерц, что позволяет реализовать видеорежим с частотой 10...30 кадр/мин.

На рис. 4б представлено изображение, полученное после применения растрового усреднения по четырем линиям в пределах одного пиксела. Частота сканирования в плече образца уменьшена в 4 раза, что пропорционально увеличивает время детектирования сигнала, но значительно сглаживает спекл-шумы [8], [9] и увеличивает контраст изображения за счет увеличения соотношения С/Ш. По результатам обработки отдельных вертикальных

линий после демодуляции и цифровой фильтрации это увеличение достигает 10 дБ.

После физических упражнений кисти руки удалось впервые зарегистрировать различимое структурное изображение сигнала от крови (рис. 5, жирная стрелка в центре). Это дает возможность получать информацию о доплеровском сдвиге частоты и, следовательно, о скорости кровотока. Последнее позволяет реализовать функциональную диагностику и цветовую ОКТ для подкожных кровеносных сосудов, аналогичную цветовой УЗИ с кодированием псевдоцветов.

Обработка отдельных вертикальных линий показала, что аксиальное ( $\Delta z$ ) разрешение постепенно ухудшается с теоретических 10000 до 30000...50000 нм. Это означает, что происходит регистрация слабо рассеянного назад излучения, которое все еще остается когерентным. Данный пе-

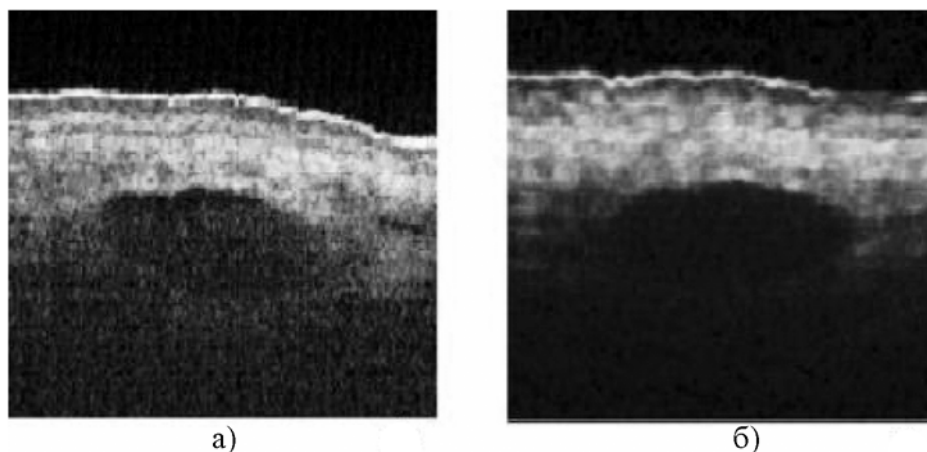


Рис. 4. ОКТ-изображения кожи и кровеносного сосуда пальца человека до (а) и после (б) оптического просветления. Диаметр сосуда  $\sim 1$  мм. Размер изображений  $2 \times 2$  мм<sup>2</sup>



Рис. 5. ОКТ-изображения кожи и кровеносного сосуда пальца человека. Тонкими стрелками показаны верхняя и нижняя стенки сосуда. Вертикальной стрелкой показана фасция. Жирная стрелка в центре показывает структурный сигнал от крови. Размер изображения  $2 \times 2$  мм<sup>2</sup>

реходный режим регистрации лежит между когерентной и диффузионной томографией [11]. Он позволяет увеличить глубину когерентного зондирования до глубины 1,7...1,8 мм, где обычный режим детектирования отраженных когерентных фотонов уже неосуществим.

При оптическом просветлении контраст изображения сначала увеличивается (через 5...7 мин), а потом резко падает. Структура сосудов перестает быть четко видна, однако глубина когерентного зондирования увеличивается. Регистрируется сигнал от слоев кожи с глубины ~ 1,6...1,8 мм, но с ухудшенным в 4-6 раз пространственным разрешением.

В традиционной ОКТ обычно увеличивают числовую апертуру линзы в плече образца, что позволяет различать структуры с разрешением  $L_{ax} \approx 3000...10000$  нм, но на глубине ~ 0,6...0,9 мм, что приблизительно в 2-3 раза превышает возможности конфокальной микроскопии. При относительно долгом (~1...4 с) получении изображения микроскопическое дрожание руки пациента (тремор) сказывается на качестве изображения верхних слоев, которые оказываются размыты. Нижние слои (глубже 0,5...0,6 мм) не отражают этого дрожания. Разрешение в ткани глубже 0,5...0,6 мм во всех исследованных случаях одинаково, хотя изображение верхних слоев отражает вибрации с амплитудой 10000...20000 нм. Это происходит из-за ухудшения пространственного разрешения, которое постепенно увеличивается с глубиной.

Более глубокие слои кожи возможно визуализировать только за счет переходного квазидиффузионного когерентного режима регистрации фотонов. Уменьшение разрешения нижних слоев в 3-5 раз по сравнению с верхними слоями соответствует наличию рассеяния излучения и перехода в промежуточный режим между когерентной и диффузионной томографией. Это режим слабо рассеянных фотонов, сохраняющих когерентность с опорным плечом интерферометра.

## Заключение

В работе была использована усовершенствованная сканирующая оптическая линия задержки, основанная на применении дифракционной решетки. Описанные усовершенствования, важные с практической точки зрения, позволяют уменьшить физические размеры ОЛЗ до  $10 \times 3 \times 5$  см<sup>3</sup> и использовать низкокогерентный источник излучения (СЛД) мощностью до 0,4 мВт. При использовании оптического циркулятора обратное влияние излучения на СЛД можно практически исключить. Это также позволит дополнительно уменьшить мощность источника в 2 раза. Примененное растровое усреднение в пределах одного пиксела увеличивает соотношение С/Ш на 4...10 дБ. При таком соотношении удалось зарегистрировать фотоны в переходном режиме от отражения и обратного рассеяния к диффузионному режиму многократного рассеяния. Изменяя когерентность источника излучения, воз-

можно добиться соответствия когерентного пакета пространственному разрешению в глубоких слоях биообъекта.

## Список литературы:

1. Зимняков Д.А., Тучин В.В. Оптическая томография тканей // Квантовая электроника. 2002. № 10. С. 849-867.
2. Гундорова Р.А., Кваша О.И., Нурмамедов Р.А. Характеристика изменений органа зрения при ЧС / Сборник научных трудов «Российский общенациональный форум с международным участием». – Москва, 2008. С. 202-205.
3. Fisher Y.L., Nogueira F., Salles D. Diagnostic ophthalmic ultrasonography / In: Tasman W., Jaeger E.A., eds. *Duane's Foundations of Clinical Ophthalmology*. 15th ed. – Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins; 2009. Chap. 108.
4. Abahussin M. et al. 3D collagen orientation study of the human cornea using X-ray diffraction and femtosecond laser technology // Invest Ophthalmol vis Sci. 2009. Vol. 50 (11). PP. 5159-5164.
5. Proskurin S.G., Sokolova I.A., Wang R.K. Imaging of non-parabolic velocity profiles in converging flow with optical coherence tomography // Physics in Medicine and Biology. 2003. PP. 2907-2918.
6. Proskurin S.G., He Y., Wang R.K. Doppler optical coherence imaging of converging flow // Physics in Medicine and Biology. 2004. № 7. PP. 1265-1276.
7. Proskurin S.G. Comparison of high and low coherence Doppler spectra for human subcutaneous blood flow diagnostics *in vivo* // Proc. SPIE. 2005. Vol. 5702. PP. 44-53.
8. Прокурин С.Г., Ванг Р.К. Визуализация подкожных кровеносных сосудов человека посредством увеличения глубины когерентного зондирования // Квантовая электроника. 2004. Т. 34. С. 1157-1162.
9. Proskurin S.G., Meglinski I.V. Optical coherence tomography imaging depth enhancement by superficial skin optical clearing // Laser Physics Letters. 2007. № 11. PP. 824-826.
10. Bonesi M., Proskurin S.G., Meglinski I.V. Imaging of subcutaneous blood vessels and flow velocity profiles by Optical Coherence Tomography // Laser Physics. 2010. Vol. 20. PP. 891-899.
11. Прокурин С.Г. Использование поздно пришедших фотонов для диффузионной оптической томографии биологических объектов // Квант. электроника. 2011. Том. 41. С. 402-406.

Сергей Геннадьевич Прокурин,  
канд. физ-мат. наук., доцент,  
Сергей Владимирович Фролов,  
д-р. техн. наук., профессор,  
зав. кафедрой,  
кафедра биомедицинской техники,  
Тамбовский государственный  
технический университет,  
г. Тамбов,  
e-mail: spros@tamb.ru