

Tief in die Augen geschaut

Neue Technologien stärken die Kurzkohärenzinterferometrie als wichtiges Diagnosewerkzeug.

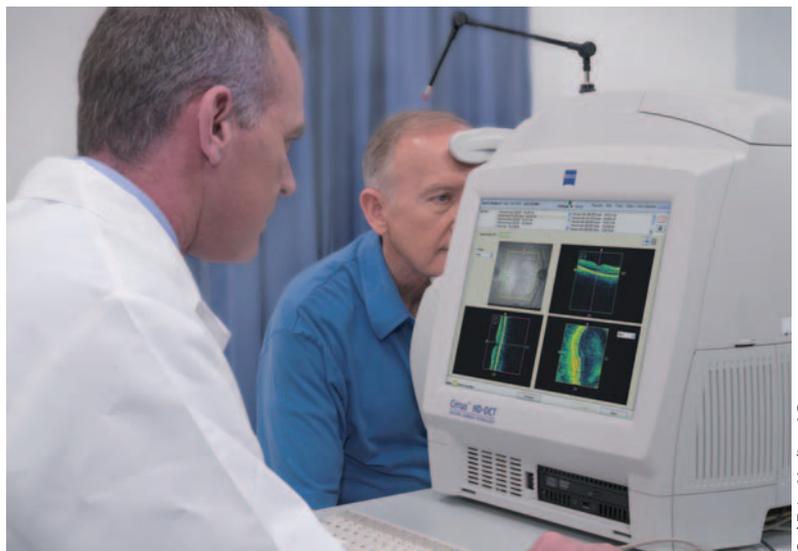
Martin Hacker und Michael Kempe

Obwohl es nahe liegt, das Auge mit optischen Methoden zu untersuchen, war es in der Vergangenheit nicht möglich, im Augeninneren und insbesondere bei der Netzhaut medizinisch relevante tiefe aufgelöste Strukturinformation zu gewinnen. In den letzten Jahren hat sich diese Situation dank neuer Diagnoseverfahren, die auf der Interferometrie mit spektral breitbandigem bzw. zeitlich kurzkohärentem Licht beruhen, jedoch geändert. Aktuell geht die technologische Entwicklung u. a. hin zu einer Tomographie, die innerhalb von ein bis zwei Sekunden dreidimensionale Aufnahmen des Auges liefert.

Im gleichen Maße wie die Lebenserwartung der Menschen steigt, nimmt auch die Bedeutung von altersbedingten Krankheiten zu. In der Augenheilkunde gehören dazu die Katarakt (grauer Star), das Glaukom (grüner Star), die altersbedingte Makuladegeneration (AMD) – die Schädigung des Bereichs auf der Netzhaut, in dem wir am schärfsten sehen – sowie andere Netzhauterkrankungen. Angesichts der gravierenden individuellen, aber auch sozialen und ökonomischen Auswirkungen unzureichender Behandlung werden mit Hochdruck neue Therapeutika (Operationstechniken, Implantate, Medikamente) entwickelt, die auch bessere diagnostische Mittel erfordern bzw. nach sich ziehen. Ein Beispiel sind Medikamente, die in der Netzhaut das Blutgefäßwachstum unterdrücken, das bei AMD die Sehnerven zerstört. Da diese Medikamente oft sehr teuer sind und Nebenwirkungen verursachen können, ist eine möglichst genaue Diagnose zu ihrem zielgerichteten und sparsamen Einsatz wünschenswert.

Bessere Diagnosemöglichkeiten sind aber auch notwendig im Zusammenhang mit der Laserbehandlung der Hornhaut, um Fehlsichtigkeit zu korrigieren („Laser In Situ Keratomileusis“, LASIK). Hierbei geht es darum, die Eigenschaften der Hornhaut vor der Operation genau zu bestimmen, um den Eingriff planen und die Risiken minimieren zu können.

Obwohl optische Verfahren eigentlich prädestiniert sind für tiefe aufgelöste Untersuchungen am Auge, wurden früher für diese und andere diagnostische Fragen Ultraschall-Verfahren eingesetzt. Das hängt damit zusammen, dass sich aufgrund der Geometrie des Auges und der natürlich vorliegenden Aberrationen optische Untersuchungen des Augeninneren nur mit



Carl Zeiss Meditec AG

In der Augenheilkunde hat sich die optische Kohärenztomographie bereits als

Methode zur Diagnose und Therapie etabliert.

sehr begrenztem optischen Öffnungswinkel (numerische Apertur) durchführen lassen. Während dies für die laterale Auflösung akzeptabel ist (darauf hat die Evolution das Auge letztlich optimiert), bedeutet es eine oft unakzeptabel schlechte axiale Auflösung. Gerade die dreidimensionale Auflösung in die Tiefe des Auges (z. B. in den Schichten der Netzhaut) liefert aber frühdiagnostische oder therapiebegleitende Aussagen von hohem klinischen Wert.

Seit dem Beginn der Neunzigerjahre ist es gelungen, optische Methoden zu entwickeln, die diese Einschränkung überwinden. Sie erlauben es, laterale und axiale Auflösung zu entkoppeln und somit das Auge hochauflöst und dreidimensional abzubilden und zu vermes-

KOMPAKT

- Zeitlich kurzkohärentes Licht, z. B. von KurzpulsLasern oder Superlumineszenzdiolen, ermöglicht es, auch komplexe biologische Strukturen interferometrisch zu vermessen.
- Kurzkohärenz-Verfahren zeichnen sich durch eine weitgehende Entkopplung von lateraler und axialer Auflösung sowie eine hohe Messempfindlichkeit aus.
- Die optische Kohärenztomographie (OCT) wird primär in der Augenheilkunde eingesetzt, die optische Kohärenzmikroskopie (OCM) auch in der medizinischen und biologischen Grundlagenforschung.

Dr. Martin Hacker,
Carl Zeiss Meditec
AG, Göschwitzer Str.
51-52, 07745 Jena;
Dr. Michael Kempe,
Carl Zeiss AG, Carl-
Zeiss-Promenade 10,
07745 Jena

1) Diese axiale Auflösung ist gleich der Halbwertsbreite (FWHM) der Streuamplituden-Punktbildfunktion.

2) Superlumineszenz-dioden sind Halbleiter-Laserdioden mit starker stimulierter Emission unterhalb der Laserschwelle.

sen. Zu diesen Methoden, die auf der Interferometrie mit zeitlich kurzkohärentem Licht beruhen, gehören die optische Kohärenzbiometrie (OCB) [1] und die optische Kohärenztomographie (OCT) [2]. Wir nennen sie daher im Folgenden Kurzkohärenz-Verfahren. Sie arbeiten gerade auch in streuenden und nur teilweise transparenten Medien kontakt- und zerstörungsfrei, sodass sie gut für Anwendungen *in vivo* geeignet sind. Daher werden sie neben der Ophthalmologie auch in der Endoskopie an Gefäßen oder Atemwegen, der Dermatologie, der Zahnheilkunde sowie in der biologischen Forschung eingesetzt [3].

Interferenz bei kurzer Kohärenz

Bei interferometrischen Methoden entsteht das Messsignal durch die Überlagerung von Licht, das vom Objekt rückgestreut oder reflektiert wurde, mit Referenzlicht von derselben Lichtquelle. Klassische Interferometer werden oft zu differentiellen Messungen von Längen eingesetzt, wobei die Messobjekte durch eindeutige (optische) Grenzflächen gekennzeichnet sind. Solche Interferometer arbeiten meist mit monochromatischem Licht, da es um eine relative Längenmessung mit hoher Genauigkeit geht, bei der die absolute Lage nicht relevant ist. Ein Beispiel dafür aus der optischen Fertigung ist die Qualitätskontrolle von Linsen, deren Oberfläche man relativ zu einer Referenzfläche vermisst.

Im Gegensatz zu solchen technischen Objekten sind biologische Strukturen komplexe Gebilde mit lichtstreuenden Eigenschaften und vielen Grenzflächen. Mit spektral breitbandigem, d. h. zeitlich kurzkohärentem Licht ist dennoch Interferometrie möglich, allerdings tritt eine Interferenz nur auf, wenn die Längen von Mess- und Referenzarm in engen Grenzen übereinstimmen. Aus dem ortsabhängigen Betrag des

Interferenzsignals lassen sich dann die Lage des Objektes absolut bestimmen sowie verschiedene Grenzflächen und streuende Strukturen entlang der optischen Achse diskriminieren.

Gegenüber anderen optischen Verfahren, mit denen man biologische Strukturen untersuchen und abbilden kann (z. B. konfokales Scannen), zeichnen sich Kurzkohärenz-Verfahren aus durch:

- hohe axiale Auflösung auch bei kleinen numerischen Aperturen des abbildenden optischen Systems, da axiale und laterale Auflösung weitgehend entkoppelt sind und
- hohe Messempfindlichkeit durch interferometrische Signalverstärkung.

Um dies genauer zu erläutern, gehen wir von dem interferometrischen Signal aus, das bei der Überlagerung des von der Probe rückgestreuten Lichts der Intensität I_s mit Referenzlicht der Intensität I_r entsteht:

$$S(z) = I_r + I_s + 2\sqrt{I_r I_s} \cdot \text{Re} \left(\int g(2z/c) \cdot r(z-\bar{z}) d\bar{z} \right)$$

Hierbei sind $r(z)$ das zu vermessende, tiefenabhängige, normierte Streupotential in der Probe und $g(\tau)$ eine zeitliche Kohärenzfunktion, die sich aus den spektralen Eigenschaften der verwendeten Strahlung ergibt. Je breiter das Spektrum der Lichtquelle, umso kürzer ist die Kohärenzzeit (Fourier-Beziehung), also die Zeitdifferenz, innerhalb der das Licht noch mit sich selbst interferieren kann. Entsprechend kann nur dasjenige Streulicht aus der Probe, welches innerhalb des durch die Kohärenzzeit definierten Fensters auf den Detektor fällt, mit dem Referenzlicht interferieren und zum ausgewerteten Interferenzsignal beitragen. Da die Laufzeitdifferenz des Lichtes zwischen Referenz- und Messarm, $\tau = 2z/c$, die zeitliche mit der axialen (z -)Koordinate verknüpft, legt die zeitliche Kohärenzfunktion über die Faltung mit dem Streupotential die erzielbare axiale Auflösung fest.

Rechnerisch einfach gestaltet sich die Situation, wenn man eine Lichtquelle mit gaussförmigem Spektrum um die Zentralwellenlänge $\lambda = 2\pi c/\omega_0$ und mit einer Bandbreite $\Delta\lambda = (4 \ln 2 \cdot \lambda^2/\pi c) \cdot (1/\tau_c)$ (FWHM) betrachtet. Dies ist eine akzeptable Näherung z. B. für Kurzpuls-laser. Die Kohärenzfunktion nimmt in diesem Fall die Form $g(\tau) = \exp(-i\omega_0\tau - \tau^2/2\tau_c^2)$ an [4]. Die aus der Interferenz resultierende (axiale) Tiefenauflösung δz berechnet sich dann folgendermaßen:¹⁾

$$\delta z = \frac{2 \ln 2}{\pi} \cdot \frac{\lambda^2}{\Delta\lambda}$$

Um hohe Tiefenauflösung zu erzielen, ist also eine Lichtquelle mit hoher Bandbreite $\Delta\lambda$ erforderlich. Typische Quellen sind daher z. B. Superlumineszenz-dioden²⁾ und Kurzpuls-laser mit Bandbreiten zwischen 10 und 100 nm. Eine schmalbandige Laserquelle mit sehr geringem $\Delta\lambda$, wie sie bei der Interferometrie in Grundlagenforschung oder Metrologie verwendet wird, eignet sich hingegen nicht.

Offensichtlich ist die Ausdehnung des Kohärenzfensters nur durch die Kohärenzzeit τ_c der Quellenstrahlung bestimmt und unabhängig von der lateralen Auflösung des Systems. Wird ein Kurzkohärenz-

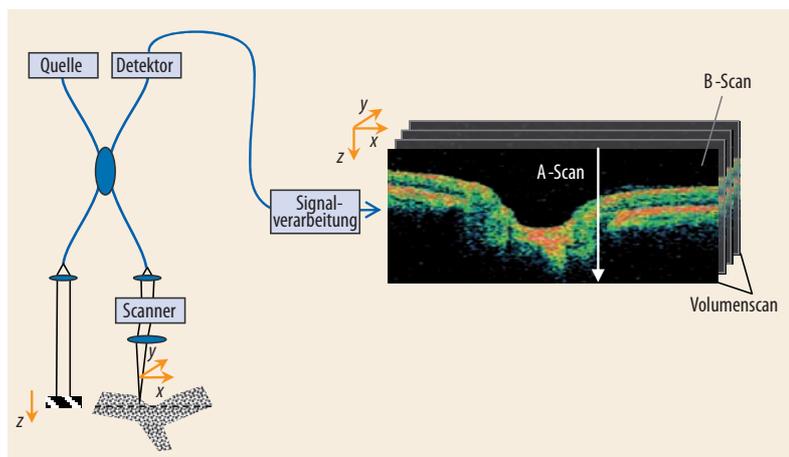


Abb. 1 Bei der klassischen OCT wird die Tiefe des Objekts abgetastet, indem man die Länge des Referenzarms verändert (A-Scan). Durch zusätzliches Scannen der Probe lassen sich benachbarte A-Scans aufzeichnen und somit laterale Schnittbilder generieren (B-Scans). Aus

lateral versetzten Schnittbildern ergibt sich dann ein Volumenscan. Die Signalverarbeitung besteht meist aus einer Demodulation des Interferenzsignals (Bestimmung der Einhüllenden) für jeden A-Scan.

Verfahren in einem bildgebenden optischen System, wie dem Auge, eingesetzt, so bestimmt letzteres allein die laterale Auflösung Δx . Diese hängt nur von der Wellenlänge und der numerischen Apertur NA der abbildenden Optik ab:³⁾

$$\Delta x = \frac{\lambda}{2NA}$$

Natürlich besitzt auch das optische System eine axiale Auflösung – üblicherweise der Bereich der scharfen Abbildung. Diese Auflösung Δz ist für kleine NA meist deutlich schlechter als typische δz der Kurzkohärenzverfahren:

$$\Delta z = \frac{2\lambda}{NA^2}$$

Für die typische Apertur eines menschlichen Auges von 0,15 ergibt sich eine ideale laterale bzw. axiale Auflösung von $\Delta x = 5 \mu\text{m}$ und $\Delta z = 70 \mu\text{m}$, während mit den typischen Parametern einer Superlumineszenzdiode, $\Delta\lambda = 20 \text{ nm}$ und $\lambda = 800 \text{ nm}$, $\delta z = 12 \mu\text{m}$ folgt. Damit sich ein Objekt durch eine Verschiebung des Kohärenzfensters axial scannen lässt, sollte die durch die Kurzkohärenzinterferenz bestimmte Tiefenaufklärung viel kleiner sein als der Bereich der scharfen Abbildung (d. h. $\delta z \ll \Delta z$), wofür NA viel kleiner gewählt werden muss als $2\sqrt{(\Delta\lambda/\lambda)}$ bzw. mit obigen Parametern $NA \ll 0,3$. Die Tiefenaufklärung lässt sich weiter steigern, indem man die Kohärenzzeit verkürzt bzw. die spektrale Bandbreite der verwendeten Strahlung erhöht. Liegt die Auflösung unterhalb von $100 \mu\text{m}$, so spricht man allgemein von Kurzkohärenzinterferometrie. Als beste Tiefenaufklärung wurde bereits ca. $1 \mu\text{m}$ erreicht.

Die zweite wichtige Eigenschaft der Kurzkohärenzverfahren – die hohe Messempfindlichkeit – folgt

daraus, dass die Intensität des Referenzlichtes in die Signalamplitude $\sqrt{I_r I_s}$ eingeht und sich damit das Signal-Rausch-Verhältnis (signal to noise ratio, SNR) optimieren lässt. Dadurch ist es oft möglich, das Interferenzsignal über eventuelle Störsignale anzuheben, sodass nur noch die Zahl der detektierbaren Photonen aus der Probe das resultierende SNR bestimmt (schrot-rauschbegrenzte Messung). Typische Sensitivitäten für ophthalmologische Applikationen liegen bei 80 bis 100 dB, d. h. das Verhältnis des kleinsten detektierbaren Streusignals zum Signal eines hundertprozentigen Reflektors beträgt 10^{-8} bis 10^{-10} .

3) Als laterale bzw. axiale Auflösung des optischen Systems wird hier die ungefähre Halbwertsbreite (FWHM) der Punktbildfunktion verstanden.

Vom Streuprofil zum Bild

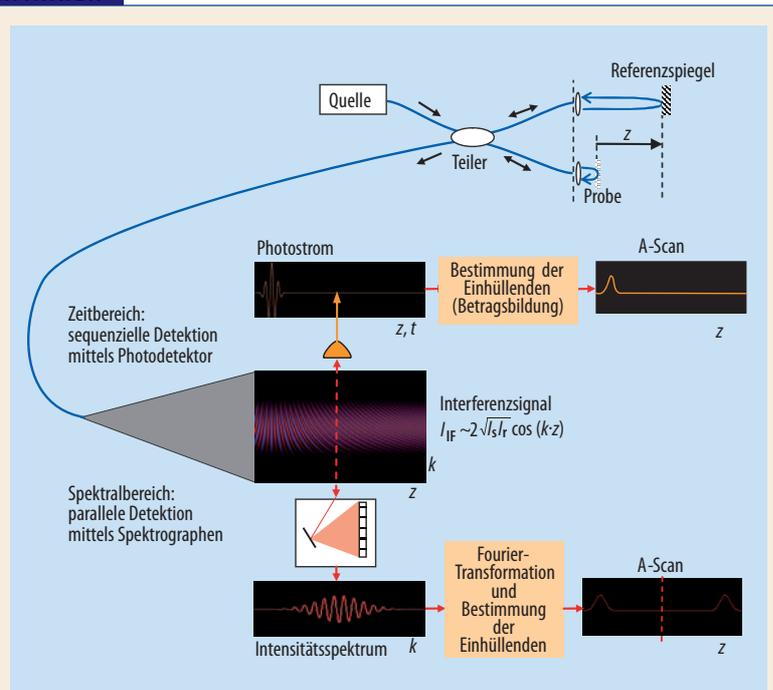
Ein dreidimensionales Bild einer Probe entsteht, indem man diese lateral abtastet (Scannen) und dabei ortsabhängig tiefenaufgelöste Streuprofile gewinnt. Dann spricht man von optischer Kohärenztomographie (OCT).

Bei der klassischen Variante (Time-domain OCT; TD-OCT) ergeben sich die tiefenabhängigen Streuprofile, wenn man die Länge eines Referenzarms schnell mechanisch variiert. In Anlehnung an die Ultraschallbildung spricht man dabei von A-Scans bzw. von B-Scans bei lateralen Schnittbildern, aus denen sich wiederum ein Volumenscan zusammensetzt (Abb. 1). Dieses Verfahren erlaubt typischerweise einige hundert bis wenige tausend A-Scans pro Sekunde.

Alternativ lassen sich die tiefenaufgelösten Streuprofile auch gewinnen, indem man spektrale Interferenzen mit einem Spektrographen und einer Linienkamera aufnimmt (Infokasten) [5]. Da dieses neuere Ver-

ZEIT- UND SPEKTRALBEREICH-VERFAHREN

Bei der Zeitbereich-Variante (TD) wird die Länge des Referenzarms zeitlich variiert, sodass Streusignale aus verschiedenen Probentiefen zeitlich nacheinander den Detektor erreichen. Die Spektralbereich-Variante (SD) nutzt aus, dass auch bei fester Referenzarmposition spektrale Modulationen im Interferenzsignal vorliegen, die Informationen über einen gesamten A-Scan beinhalten und sich mittels Fourier-Transformation rekonstruieren lassen. Der Sensitivitätsvorteil des SD-Systems basiert auf der parallelen Detektion des Signals mit vielen Kamerapixeln, wobei jedes einzelne Kamerapixel ein Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) bietet, das mit dem des Detektors im TD-System vergleichbar ist. Durch die Fourier-Transformation addieren sich die Nutzsignale der Pixel kohärent, die Rauschteile jedoch nur inkohärent. Dadurch erhöht sich das SNR des SD-Systems um einen Faktor, der proportional zur Zahl N der Kamerapixel ist, bzw. bei gleichem SNR verkürzt sich die Messzeit.



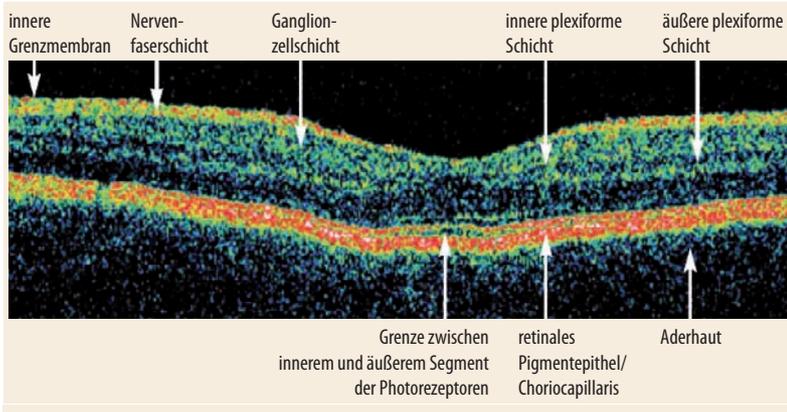


Abb. 2 Querschnitt (B-Scan) durch die Fovea-Region eines menschlichen Auges. Diese „Sehgrube“ im Zentrum des „Gelben Flecks“ (Makula) ist der Be-

reich des schärfsten Sehens in der Netzhaut (Retina). Die Ausdehnung beträgt vertikal 2 mm und horizontal ca. 6 mm.

fahren während jeder Belichtungszeit der Kamera die in einem A-Scan enthaltene Information parallel im Spektralraum aufzeichnet, nennt man dies auch „Spectral-Domain OCT“ (SD-OCT) oder wegen der zur Rekonstruktion der A-Scans benötigten Fourier-Transformation „Fourier-Domain OCT“ bzw. FD-OCT. Durch das parallele Aufzeichnen und den Wegfall des bewegten Referenzspiegels erlaubt es diese Methode, die Daten verglichen mit TD-Verfahren bis zu hundertmal schneller zu erfassen – bei vergleichbaren oder sogar höheren Sensitivitäten. Einige 10 000 A-Scans pro Sekunde ermöglichen erstmals dreidimensionale Aufnahmen *in vivo* (Volumenscans). Die typischen Messzeiten dafür – wie generell für Messungen am Auge – betragen etwa ein bis zwei Sekunden. Dieser Geschwindigkeitsvorteil hat jedoch seinen Preis: Die Auflösung des Spektrometers begrenzt nämlich die Scantiefe.

FD-OCT ist auch mit Hilfe durchstimmbarer Quellen möglich. Dann ist der für die spektrale Auflösung nötige Aufwand vom Detektor zur Quelle verlagert, was insbesondere für Spektralbereiche interessant ist, für die sich siliziumbasierte Kameras nicht eignen.

Neben der grundsätzlichen Weiterentwicklung der Methode war und ist es auch wichtig, neue Wellenlängen zu erschließen. Im Hinblick auf biomedizinische Anwendungen spielen dabei vor allem zwei Aspekte eine wichtige Rolle: die Streuung und die Absorption im Gewebe. Einerseits sinkt mit zunehmender Wellenlänge im Allgemeinen die Streuung, andererseits steigt im Nahen Infrarot die Wasserabsorption. Beide Effekte bestimmen die Signalverluste beim „Transport“ der Strahlung innerhalb der Probenregion, die letztendlich das erreichbare SNR bzw. die Eindringtiefe in die Probe bestimmen. Daher eignen sich für die Dermato-

logie oder Endoskopie, wo es um dichte, stark streuende Gewebe und kurze oder mittlere Reichweiten geht, bevorzugt Wellenlängen zwischen 1000 und 1300 nm. Bei der OCT an der Netzhaut muss die Strahlung hingegen den Glaskörper des Auges durchqueren, ein wenig streuendes, aber absorbierendes Medium. Somit bieten sich hier besonders Wellenlängen zwischen 800 und 870 nm an, bei denen die Absorption in Wasser möglichst gering ist. Ein günstiger Kompromiss, insbesondere um unter der Netzhaut liegende Strukturen im hinteren Augenabschnitt (z. B. die Aderhaut) abzubilden, ist der Spektralbereich um 1050 nm. Dabei absorbiert der Glaskörper zwar etwas stärker als bei 800 nm, gleichzeitig darf die Lichtintensität aber höher sein, sodass die Eindringtiefe deutlich steigt [6]. Bei OCT in oberflächennahen Regionen von Geweben, wie am vorderen Augenabschnitt oder in der Endoskopie, fällt die Wahl oft auf 1300 bzw. 1500 nm, da in diesem Bereich kostengünstige und zuverlässige Komponenten aus der Telekommunikation verfügbar sind.

Kurzkohärenz in der Ophthalmologie

Anwendungen der Kurzkohärenz-Verfahren am Auge sind nicht nur naheliegend, sondern auch kommerziell bisher mit großem Abstand am erfolgreichsten. In der Ophthalmologie haben diese Techniken Alleinstellungsmerkmale verglichen mit allen anderen bildgebenden und messenden Verfahren. Sie liefern Informationen über die vielschichtigen Strukturen im Auge, die von hohem klinischen Wert sind (Abb. 2).

Die TD-OCT eignet sich besonders für die Aufnahme klassischer, zweidimensionaler Tomogramme (B-Scans), vor allem, wenn relativ große Scantiefen (> 5 mm) wichtig sind, wie bei der Vermessung (Biometrie) und Diagnose im vorderen Augenabschnitt:

- Untersuchung des Kammerwinkels, um das Glaukomrisiko abzuschätzen,
- Dickenmessung der Hornhaut (Pachymetrie), um z. B. LASIK-Operationen zu planen und zu dokumen-

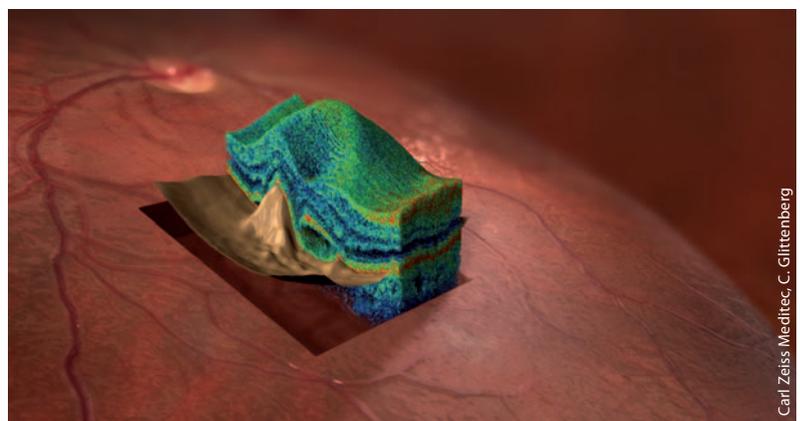


Abb. 3 Volumentomogramm der Netzhaut eines Patienten, überlagert mit dem zugehörigen optischen Bild des Augenhintergrunds (Fundusbild). Die eingezeichnete Höhenkarte (braun/beige)

wurde aus dem Tomogramm gewonnen und erlaubt es, krankhafte Lageveränderungen der Photorezeptorenschicht der Netzhaut, wie sie beispielsweise bei AMD auftreten, quantitativ zu bewerten.

tieren oder Risikopatienten für eine besondere Hornhautverformung (Keratokonus) auszuschließen,

- Biometrie der Vorderkammer, um Linsen anzupassen, die vor die natürliche Linse eingesetzt werden (phake Intraokularlinsen).

Allerdings dient die TD-OCT auch zur Diagnose der Netzhaut bzw., um Krankheitsverläufe zu verfolgen. Verbreitete Anwendungen sind:

- Analyse der Nervenfaserschichtdicke der Netzhaut um den Sehnervenkopf zur Glaukomdiagnose,
- Analyse von Querschnittstomogrammen, topografischen und volumetrischen Informationen vom Sehnervenkopf zur Glaukomdiagnose,
- Querschnittsaufnahmen (Abb. 2) mit Dickenanalyse der Makula für prä- oder postoperative Zustände der Netzhaut, z. B. im Umfeld von Kataraktoperationen,

Die SD-OCT eignet sich in der Regel besonders gut für alle Anwendungen im hinteren Augenabschnitt, da dort vor allem Bereiche mit geringer Tiefenausdehnung (< 2 mm) für die Bildgebung relevant sind. Daher stört die Scantiefenbegrenzung aufgrund der Spektrometerauflösung weniger.

Die mit SD-OCT verbundenen hohen Scanraten bei gleichzeitig großer Empfindlichkeit erlauben es, umfang- und detailreiche Tomogramme schnell aufzunehmen. Dazu gehören zum einen dichte B-Scans, mit denen sich feine Strukturveränderungen wie bei der altersbedingten Makuladegeneration untersuchen, aber auch Strukturen mit sonst schwacher Sichtbarkeit (z. B. der Glaskörper) visualisieren lassen. Umfangreiche Volumenscans sind zum anderen von großer Bedeutung, um die Dicken von Netzhautschichten genau bestimmen zu können (Abb. 3). Dies ist notwendig, um den Verlauf mehrerer Krankheitsbilder zu kontrollieren, u. a. Glaukom, AMD, Netzhautveränderungen infolge Diabetes oder Schwellungen. Dazu ist es auch wichtig, die Strukturen genau zu lokalisieren bzw. bei mehrfachen Scans die gleiche Position wieder zu finden. Bei wiederholten Praxisbesuchen lassen sich damit Veränderungen an pathologischen Strukturen genau analysieren.

Für die Biometrie des Auges werden Kurzkohärenz-Verfahren schon etwas länger eingesetzt, insbesondere um die Achslänge zu bestimmen, also den Abstand vom Hornhautscheitel bis zum Bereich des schärfsten Sehens auf der Netzhaut [1]. Die Achslänge ist neben der Hornhautkrümmung der wichtigste Parameter, um intraokulare Linsenimplantate anzupassen. Die Kataraktoperation, d. h. der Ersatz altersbedingt eingetrübter Linsen durch künstliche Implantate, ist eine der weltweit am häufigsten durchgeführten Operationen. Das Ziel ist es, nach der Operation ein möglichst gutes Refraktionsergebnis zu erreichen, um eine Brille zu vermeiden. Die Lebensqualität der Betroffenen erhöht sich durch diese Operation deutlich. Dies reicht von verbessertem Farben- und Nachtsehen bei leichten und mittleren Katarakten bis zur Beseitigung von faktischer Blindheit bei starken Katarakten, wie sie insbesondere in unterentwickelten Regionen noch häufig anzutreffen ist.

Die Messung der Achslänge beruht auf der Analyse von Signalen, die Hornhaut bzw. Netzhaut rückgestreut haben, auch durch Katarakte hindurch. Da die natürliche Augenlänge erstaunlich stark variiert – von 14 bis 40 mm –, ist bei einer Brechzahl von ca. 1,4 ein Messtiefenbereich von über 36 mm abzudecken. Als günstiges Messprinzip hat sich das „Dual-Beam“-Verfahren erwiesen, bei dem mittels eines Michelson-Interferometers zwei gegeneinander optisch verzögerte Strahlenteile erzeugt werden. Bei geeigneter Abstimmung können dann die von Horn- bzw. Netzhaut rückgestreuten Lichtanteile interferieren. Da das von der Hornhaut rückgestreute Signal deutlich stärker ist, übernimmt es die Rolle eines Referenzsignals.

Der Hauptvorteil dieses Prinzips liegt darin, dass es relativ unempfindlich ist gegenüber axialen Bewegungen des Patienten, da sich i. Allg. Netz- und Hornhaut synchron in axialer Richtung bewegen. Dadurch lassen sich die Signale länger mitteln, sodass auch relativ langsame Time-Domain-Verfahren hohe Empfindlichkeiten bieten.

Optische Kohärenzmikroskopie

Kurzkohärenz-Verfahren haben sich in der angewandten Forschung noch nicht in einer zur Medizin vergleichbaren Weise als Werkzeug etabliert. In der biomedizinischen Forschung ist die Fluoreszenzmikroskopie eine der wichtigsten Bildgebungsmethoden, da sie eine hohe Selektivität mit hoher Auflösung verbindet, um spezielle Strukturen sichtbar zu machen. Hier spielt die OCT – dann auch optische Ko-

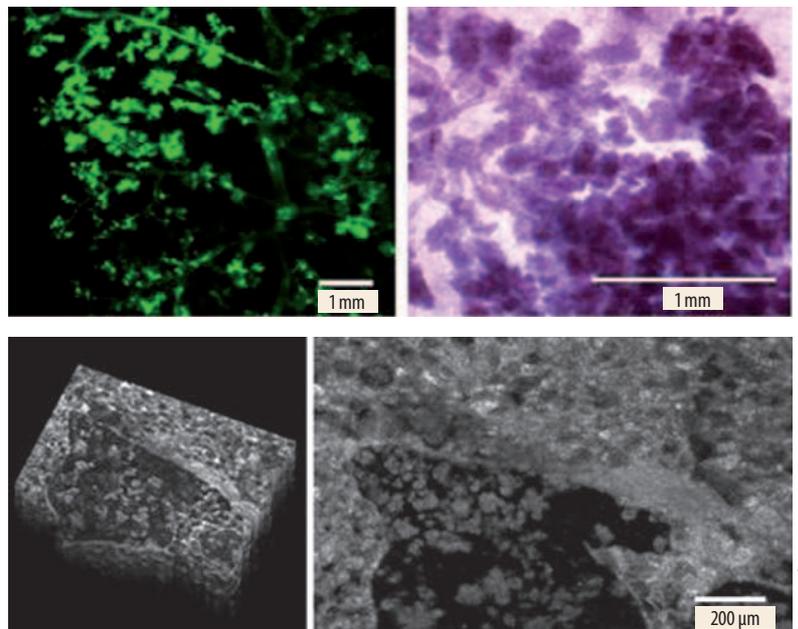


Abb. 4 Die Milchdrüse einer Maus dient als Modell der Brusttumorentwicklung und ist hier mit verschiedenen Verfahren abgebildet: Fluoreszenzbildgebung mit GFP-Marker (oben links) und Histofärbung (oben rechts) zeigen die Struktur des Gewebes der Milchdrüse. OCM-Auf-

nahmen in 3D über eine Tiefe von 250 µm (unten links), aus der man einzelne Schnitte in gewählter Tiefe selektieren kann (unten rechts), liefern sehr ähnliche Strukturinformationen markerfrei und im dreidimensionalen Objekt.

R. Leitgeb, Universität Wien

härenzmikroskopie (OCM) genannt – vor allem eine Rolle, wenn man Marker wie Fluoreszenzfarbstoffe nicht einsetzen kann oder bevorzugt vermeidet. In der klinischen *in vivo*-Forschung ist das offensichtlich der Fall, aber auch bei Untersuchungen an Kleintiermodellen ist eine markerfreie Bildgebung von Vorteil. Die OCM hat gezeigt, dass durch Detektion rückgestreuten Lichts – gegebenenfalls gekoppelt mit zusätzlichen Kontrastmechanismen – in vielen Fällen ein interessanter Kontrast für morphologische Untersuchungen in 3D entsteht (Abb. 4). Im Vergleich zu anderen markerfreien Bildgebungsverfahren wie konfokalem Scannen besitzt OCM die bereits oben genannten Vorteile der Entkopplung von axialer und lateraler Auflösung sowie der hohen Messempfindlichkeit.

Eine technologische Besonderheit von OCM besteht darin, dass die mikroskopische Auflösung keine kleinen numerischen Aperturen erlaubt. Hierbei kann der axiale Scanbereich Δz in die Nähe der Tiefenauflösung δz , die durch die Kohärenz der Lichtquelle bestimmt ist, kommen oder diese übersteigen. Bei einer lateralen Auflösung von $10 \mu\text{m}$ ist bei einer Wellenlänge von $1 \mu\text{m}$ ein meist akzeptabler axialer Scanbereich (als Bereich scharfer Abbildung) von $\Delta z \approx 200 \mu\text{m}$ möglich ($NA \approx 0,1$). Eine solche Lateralauflösung ist jenseits des zellulären Niveaus, reicht aber aus, um Gewebestrukturen größerer funktionaler Bereiche bis hin zu ganzen (Modell-) Organismen abzubilden. Um die laterale Auflösung weiter zu steigern, muss man entweder auf axiales Scannen des Kohärenzfensters verzichten (diese für die Mikroskopie typische en-face Bildgebung, bei der eine Schicht lateral abgescannt wird, ist aber nicht in Kombination mit den vorteilhaften SD-OCT Techniken möglich) oder mit optischen Mitteln den Bereich scharfer Abbildung erweitern. Ein interessanter Ansatz basiert auf Anordnungen mit axial verlängerter Punktbildfunktion [7]. Dies erlaubt eine optische Abbildung, die eine laterale Auflösung von $1,5 \mu\text{m}$ mit einem axialen Scanbereich von $200 \mu\text{m}$ kombiniert ($NA = 0,23$).

Eine erwähnenswerte Form der en-face Bildgebung detektiert mittels einer Kamera das kurzkohärente Signal in einem gesamten Bildfeld parallel. Hierbei ist es erforderlich, das Interferenzsignal für jeden Pixel der Kamera einzeln zu demodulieren, was z. B. durch die pixelweise Verrechnung von vier Bildern mit verschiedener Phasenlage der Modulation möglich ist [8]. Ein grundlegender Nachteil dieses Ansatzes ist die mit ca. 80 dB kamerabedingt kleine Sensitivität. Punktscannende OCT-Verfahren erreichen im Forschungsbereich ohne die für den Menschen geltenden Bestrahlungsbeschränkungen oft bis zu 120 dB.

In der klinischen Forschung liegt der Fokus auf neuen Diagnoseverfahren am Menschen. Daneben ist der Einsatz in der Pflanzenphysiologie, der Entwicklungsbiologie sowie bei Studien an lebenden Kleintiermodellen in Videorate, auch in Kombination mit Fluoreszenzbildgebung, erwähnenswert.

Ausblick

Die Kurzkohärenzinterferometrie hat sich in der Medizin, insbesondere der Ophthalmologie, als ein wichtiges Werkzeug etabliert und hat damit direkten Einfluss auf die Lebensqualität vieler Menschen. Momentan werden in den medizinischen Routineanwendungen noch nicht einmal alle Informationen genutzt, die im rückgestreuten Licht enthalten sind, wie Polarisations- und Phasenänderungen oder spektroskopische Informationen. Wie die aktuelle klinische Grundlagenforschung zeigt, lassen sich diese Informationen aber nutzen, um neben der Struktur auch funktionelle bzw. physiologische Zusammenhänge aufzuklären. Diese Potenziale werden sich mittelfristig für breite Anwendungen erschließen und in relevante medizinische Anwendungen – auch jenseits der Ophthalmologie – überführen lassen.

Auch technologische Verbesserungen, insbesondere im Bereich der Lichtquellen, Detektoren, adaptiver Optiken und Verarbeitungsalgorithmen werden künftig die Geschwindigkeit und Qualität für Breitenanwendungen deutlich steigern und dazu beitragen, die diagnostischen Ergebnisse zu verbessern und das Instrumentarium biomedizinischer Forschung zu erweitern.

Literatur

- [1] A. F. Fercher, K. Mengedoht und W. Werner, Opt. Lett. **13**, 186 (1988)
- [2] D. Huang et al., Science **254**, 1178 (1991)
- [3] B. E. Bouma und G. J. Tearney, Handbook of Optical Coherence Tomography, Marcel Dekker, New York (2002)
- [4] A. F. Fercher, J. of Biomedical Optics **1**, (1996)
- [5] R. Leitgeb, C. K. Hitzenberger und A. F. Fercher, Optics Express **11**, 889 (2003)
- [6] A. Unterhuber et al., Optics Express **13**, 3252 (2005)
- [7] R. A. Leitgeb et al., Opt. Lett. **311**, 2450 (2006)
- [8] Arnaud Dubois et al., Appl. Optics **43**, 2874 (2004)

DIE AUTOREN

Martin Hacker studierte Physik an der Friedrich-Schiller-Universität Jena, wo er im Jahr 2003 promovierte. Seine wissenschaftlichen Arbeitsschwerpunkte lagen in der nichtlinearen Optik und der Femtosekunden-Laserphysik. Von 2004 bis 2007 entwickelte er ophthalmologische OCT-Systeme bei der Carl Zeiss Meditec Inc. in Dublin, USA. Seit 2007 ist er als Wissenschaftler und Projektleiter im Bereich Diagnosegeräteentwicklung bei der Carl Zeiss Meditec AG in Jena tätig.



Michael Kempe studierte Physik an der Friedrich-Schiller-Universität Jena und der University of New Mexico in Albuquerque, USA. Wissenschaftlich beschäftigte er sich u. a. mit konfokaler Mikroskopie, der Ausbreitung von ultrakurzen Lichtimpulsen und deren Nutzung für Bildgebung sowie der Ausbreitung von Licht in streuenden Medien. Seit 1998 ist er Mitarbeiter des Forschungszentrums der Carl Zeiss AG in Jena. Seine Tätigkeit konzentriert sich auf die Entwicklung neuer bildgebender Modalitäten für biomedizinische Anwendungen insbesondere auf dem Gebiet der Laser Scanning Mikroskopie.

