

7. Anhang: Physikalische Grundlagen und Technik der Optischen Kohärenz-Tomographie (OCT) für die Darstellung der Hornhaut und der vorderen Augenabschnitte

7.1. Physikalische Grundlagen der OCT-Methode

Die Optische Kohärenz-Tomographie (OCT) ist ein diagnostisches Verfahren, welches auf dem Prinzip des Michelson-Interferometers beruht. Bei den physikalischen Grundlagen zur Gewebediagnostik werden elektromagnetische Wellen (Licht) mit der Eigenschaft zur Interferenz und die Streueigenschaften von Geweben oder Materialien genutzt.

Die Wirkungen und Einsatzgebiete der verschiedenen Licht- und Laserverfahren erklären sich aus der eingesetzten Leistungsdichte. Hohe Leistungsdichten werden für die Therapie, niedrige dagegen zur Diagnostik genutzt.

Biologische Gewebe sind nicht homogen aufgebaut, sondern weisen eine variierende optische bzw. akustische Dichte auf. Diese wird durch den Brechungsindex beschrieben und an den Grenzflächen zwischen den Geweben unterschiedlicher Brechungsindices kommt es zu einer teilweisen Reflexion. Das gilt gleichermaßen für Schallwellen als auch für elektromagnetische Lichtwellen. Die Detektion der reflektierten Wellen wird sowohl bei der OCT als auch bei der Ultraschalluntersuchung zur Bildgebung verwendet. Bei der OCT werden jedoch anstelle von mechanischen Schallwellen (10-100 MHz) elektromagnetische Wellen aus dem sichtbaren Spektralbereich (ca. 400.000.000 MHz) angewandt. Die Geschwindigkeit von Schallwellen liegt in einem Bereich, der es erlaubt, die Zeit zwischen Absenden und Detektion der reflektierenden Wellen direkt zu messen. Da die Geschwindigkeit von elektromagnetischen Lichtwellen die Erfassungsmöglichkeiten von elektronischen Detektoren übertrifft, erfolgt deren Messung über ein interferometrisches Nachweisverfahren, und zwar der optisch-physikalischen Technik der niedrig-kohärenten Interferometrie nach Michelson (Abbildung 8). Durch die außerordentlich hohe Empfindlichkeit, die auf dem Prinzip der Heterodyn-Technik beruht, ist eine Gewinnung zweidimensionaler Schnittbilder innerhalb von Bruchteilen einer Sekunde möglich.

Im Speziellen wird beim zeitaufgelösten OCT-Verfahren Infrarotlicht sehr kurzer Kohärenzlänge (niedrigkohärentes Licht), erzeugt aus einer Superlumineszenz-

Diode (SLD) oder einer vergleichbaren breitbandigen Lichtquelle, durch einen Strahlteiler in zwei Komponenten auf das Gewebe, wie beispielsweise die Hornhaut, und auf einen Referenzspiegel projiziert [Huang 1991, Fujimoto 1995, Puliafito 1996]. Die Kohärenz einer Lichtquelle gibt hierbei den zeitlichen Bereich an, in dem eine Lichtquelle interferenzfähig ist, d.h. die Kohärenz entspricht der Entfernung, um die sich die Wege zweier Wellen unterscheiden dürfen, um bei einer Überlagerung der Wellen miteinander interferieren zu können.

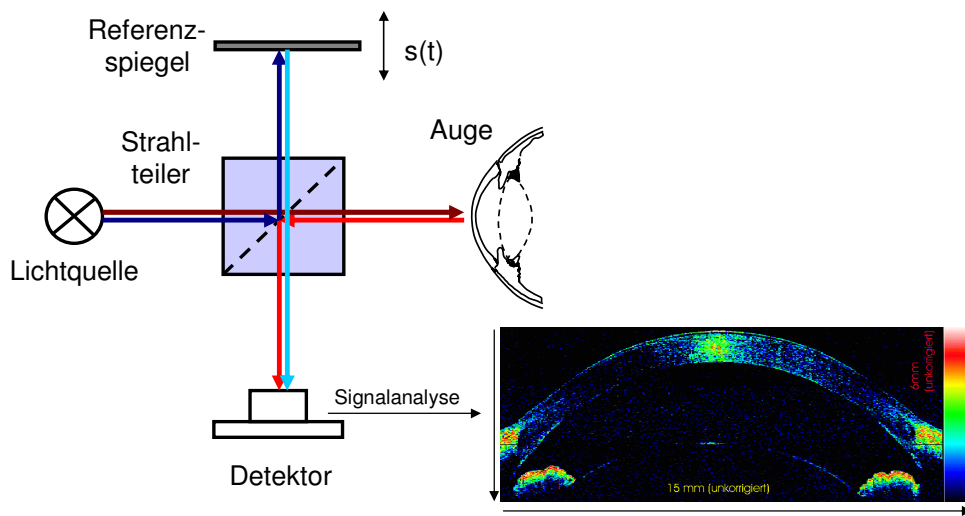


Abbildung 8: Schematische Darstellung eines Interferometers nach dem Michelson-Prinzip für die Darstellung der Hornhaut und der vorderen Augenabschnitte

Im Gewebe werden Lichtwellen gebeugt, gebrochen und reflektiert. Der exakt in Ausbreitungsrichtung zurückgeworfene Anteil kann vom Detektionssystem der OCT wieder aufgenommen und zur Signalanalyse genutzt werden [Huang 1991, Fujimoto 1995, Puliafito 1996]. Hierbei kommt es zur Interferenz von reflektiertem Licht des zu untersuchenden Objektes und von Licht, welches von dem Referenzspiegel reflektiert wird. Die reflektierten Lichtsignale werden mit dem Referenzspiegel abgeglichen, und, was letztendlich gemessen werden kann, ist das Gewebesignal bei den verschiedenen Weglängen des Referenzsignals. Die Gewebe können dadurch aufgrund der Reflektivität des Lichtes charakterisiert werden.

Bei der OCT-Methode wird somit indirekt die Zeitverzögerung („time delay“) bzw. es werden die Laufzeiten der Lichtstrahlen im Gewebe gemessen [Izatt 1994, Puliafito 1996]. Die Messung der Laufzeitverteilung von Wellen setzt sich sowohl

aus Komponenten zusammen, die bereits an der Oberfläche reflektiert wurden und deshalb sehr bald am Detektor eintreffen als auch aus Anteilen, die in tieferen Schichten reflektiert wurden und deshalb eine längere Zeit zum Detektor benötigen. Aus der zeitlichen Verteilung der Reflexionen kann auf die innere Struktur des untersuchten Gewebes geschlossen werden. Jedem Tiefenwert des untersuchten Punktes kann dadurch eine bestimmte Reflektivität zugeordnet werden, die in dB ausgedrückt wird. Die gewonnene Kurve ähnelt sehr dem A-Scan (Amplituden-Mode) der Ultraschalldiagnostik. Das System hat eine Sensitivität für reflektiertes Licht von ca. 1×10^{-12} der Energie der Lichtquelle, d.h. etwa 120 dB. Die Darstellung der jeweiligen Amplitude, d.h. das Ausmaß an Reflektivität, kann auch grauton- oder farbkodiert erfolgen. Werden durch laterales Rastern des Lichtstrahls entlang einer Geraden multiple A-Scans zusammengesetzt, so erhält man ein Schnittbild ähnlich dem B-Bild (Brightness-Mode) der Ultraschalldiagnostik und es entsteht ein mit histologischen Schnitten vergleichbarer optischer Querschnitt, aus dem sich strukturelle Gewebesinformationen erkennen lassen [Huang 1991, Izatt 1994, Fujimoto 1995, Birngruber 1999, Wirbelauer 2001a, 2002c].

Das Auflösungsvermögen des OCT-Verfahrens ist grundsätzlich abhängig von der Wellenlänge der verwendeten Strahlung und der spektralen Bandbreite bzw. der Kohärenzlänge [Puliafito 1996]. Weitere Einflussfaktoren sind das Hintergrundrauschen, der optische Einfluß von den darüberliegenden Geweben (sog. Gewebeoptik), die Digitalisierungsrate und die Bildverarbeitung. Die axiale Auflösung betrug für die angewandten klinischen Systeme 10-15 μm und war abhängig vom lateralen Durchmesser des Abtaststrahls [Wirbelauer 2000b, 2002a, 2003a].

7.2. Untersuchung der Hornhaut und der vorderen Augenabschnitte mittels OCT

Zur Untersuchung der Hornhaut und der vorderen Augenabschnitte wurde in Zusammenarbeit mit dem Medizinischen Laserzentrum in Lübeck ein Prototyp der spaltlampen-adaptierten OCT mit einer Wellenlänge von 830 nm evaluiert (Abbildung 9). Hierzu wurde das OCT-Prinzip in eine gängige Spaltlampe eingekoppelt, so dass während der augenärztlichen Untersuchung entsprechende Schnittbilder aufgenommen werden konnten. Allerdings war dieses erste

experimentelle System noch sehr aufwendig aufgebaut und kompliziert zu bedienen.



Abbildung 9. Prototyp zur Optischen Kohärenz-Tomographie (OCT) der vorderen Augenabschnitte unter Ankopplung an eine Spaltlampe.

Im Rahmen der weiteren Entwicklung gelang die Erstellung eines klinischen Untersuchungsgerätes (AS-OCT, 4Optics AG, Lübeck) zur verbesserten Diagnostik im Bereich der vorderen Augenabschnitte [Hoerauf 2000a, 2000b, Wirbelauer 2000b, 2001a]. Die Lichtquelle der in den durchgeführten Untersuchungen verwendeten OCT-Systeme war eine Superlumineszenzdiode mit einer Wellenlänge von $\lambda=830$ nm (SLD-361, Superlum, Moskau) oder $\lambda=1310$ nm (SLD-561, Superlum, Moskau) und einer Leistung von <200 μ W am Auge. Eine veränderte Wellenlänge bei 1310 nm verbesserte durch veränderte Streueigenschaften die Darstellung im Bereich der Hornhaut [Wirbelauer 2003a, 2004c] und des Kammerwinkels [Hoerauf 2000b, 2002, Wirbelauer 2003d, 2005a]. Die Kohärenzlänge betrug 20 nm bei einer Ausgangsleistung von 0,5 mW. Die axiale Auflösung betrug in Luft 15 μ m, der Durchmesser des Abtaststrahls 10 μ m (830 nm) bzw. 20 μ m (1310 nm).

Das Messverfahren wurde in den abgebildeten Spalt einer Spaltlampe (BQ 900, Haag-Streit, Bern oder SL-3C, Topcon, Japan) eingekoppelt (Abbildung 10), so dass in Spaltrichtung ein laterales Bildfeld von 6,0 mm bei einer Meßtiefe von 2,0 mm möglich war [Wirbelauer 2000b, 2001a, 2002a]. Das System konnte durch

diesen Aufbau leicht und zuverlässig auf die interessierenden Strukturen eingestellt werden.

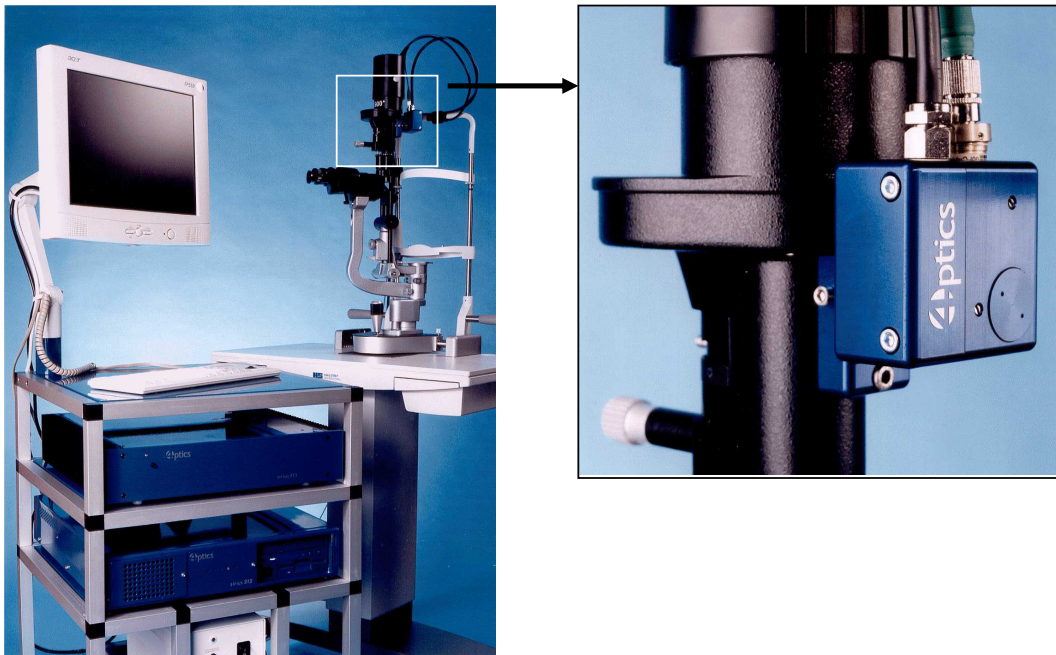


Abbildung 10: Spaltlampen-adaptierte OCT zur klinischen Anwendung (AS-OCT, 4Optics AG, Lübeck). Rechts ist die OCT-Kopplung an die Spaltlampe hervorgehoben.

Die Aufnahmen wurden nach standardisierten Vorgaben angefertigt und die Aufnahmedauer war abhängig von der Anzahl der Schichtaufnahmen pro Bild und der Scanfrequenz. Der angewandte Scanner (galvanometrischer Spiegel) hatte eine Scanfrequenz von 60Hz und eine variable Anzahl von 100 bis 400. Bei einer Scan-Anzahl von 200 und einer Aufnahmezeit von 10 ms pro A-Scan resultierte eine Aufnahmezeit von 2 Sekunden pro Bild.

Die OCT-Bilder wurden logarithmisch in einer Farb- oder Grautonkodierung dargestellt und gespeichert. Die resultierenden Bilder hatten 360x200 Pixel bei einem Digitalisierungsabstand von 5,6 μm axial und 30 μm lateral. Eine Erhöhung der Pixelzahl erhöhte zwar die Abbildungsqualität in der Wiedergabe, aber nicht die physikalisch mögliche Auflösung im Gewebe.

7.3. Darstellungsweise von OCT-Messungen

Bei der Darstellung der Hornhaut oder der vorderen Augenabschnitte wurde reflektiertes Licht analysiert, seine Intensität in farb- oder grauton-kodierten

Streulichtaufnahmen umgewandelt und simultan während der Messung abgebildet [Wirbelauer 2000b, 2001a, 2002a, 2005a]. Die unterschiedlichen Farb- bzw. Grauwerte entsprachen dabei den Amplituden der Modulation in der entsprechenden Tiefe der Probe. Der Meßvorgang, die Kalibrierung, die Bestimmung der optischen Weglängendifferenzen und deren Umwandlung in geometrische Distanzen wurden ausführlich vorgestellt [Wirbelauer 2000b, 2001a, 2002a, 2005a].

Experimentelle Untersuchungen konnten durch die OCT das Epithel, die Bowman-Membran, das Stroma, die Descemet-Membran sowie das Endothel unterscheiden [Izatt 1994]. Im klinischen Gebrauch [Wirbelauer 2001a, 2002c] konnten die Hauptschichten Epithel und Stroma gut unterschieden werden (Abbildung 11). Bei der Untersuchung des Hornhautquerschnitts stellte sich ein oberflächenbedingtes stark hyperreflektives Signal dar. Im Bereich des Epithels (E) nahm dann die Reflexion ab. Auf Höhe des vorderen Stromas (S) zeigte sich erneut eine hyperreflektive Zone (Abbildung 11).

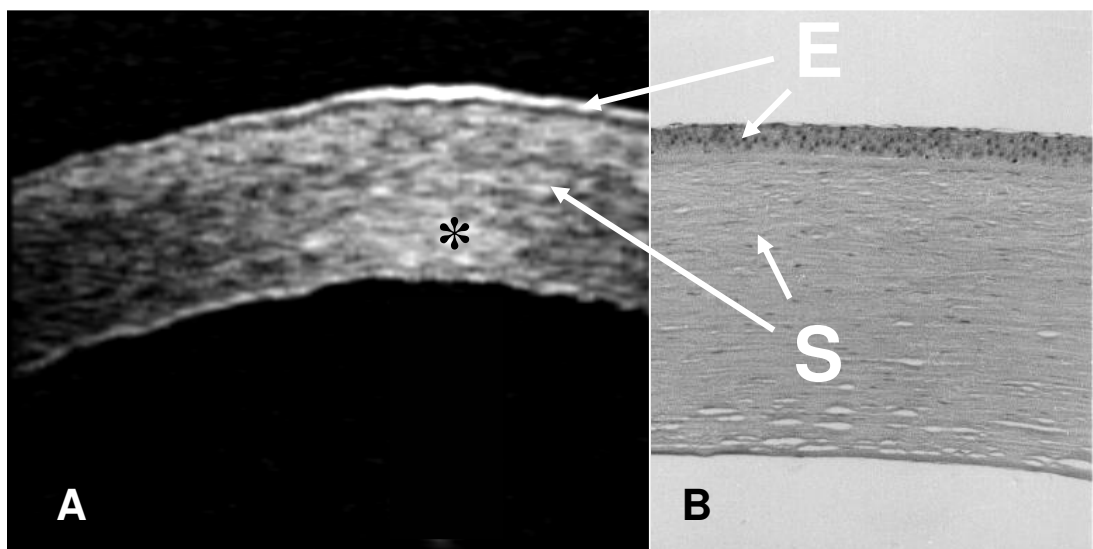


Abbildung 11: A) Repräsentative OCT der Hornhaut bei bullöser Keratopathie. B) Histologisches Präparat nach Hornhautentnahme bei einer Keratoplastik mit Darstellung der Hauptanteile des Epithels (E) und des Stromas (S). * entspricht dem hinteren Stroma.

Im weiteren Strahlverlauf kam es dann im vorderen Stroma zunächst zu einer Abnahme der Reflexion, bis im hinteren Stroma und am Übergang der Vorderkammer eine Änderung des Brechungsindex auftrat. Dieser Verlauf der Lichtstrahlung war ähnlich dem histologischen Befund (Abbildung 11).

Da bei der OCT im Wesentlichen Reflektivitäten dargestellt wurden, waren diese bei Grenzschichten auch von der Höhe der Differenz der Brechungsindices abhängig. Über die Anzeige des tiefenaufgelösten Reflexionsprofil konnte der Abstand zwischen den Grenzflächensignalen mit der stärksten Reflektivität gemessen werden, um die optischen Weglängendifferenzen zu erhalten (Abbildung 12).

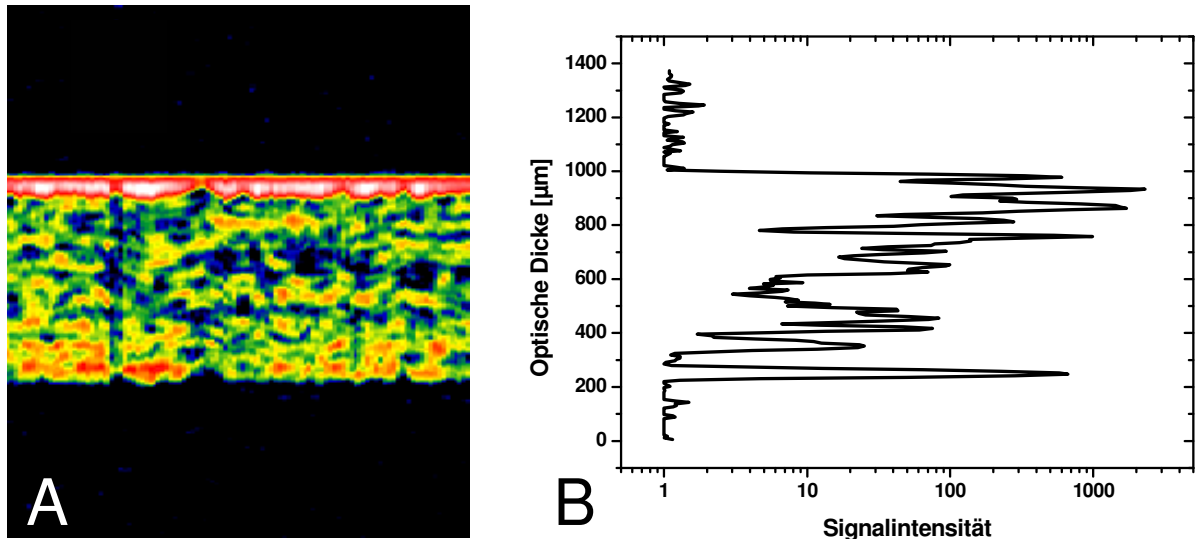


Abbildung 12: Optische Bestimmung der Hornhautdicke mittels OCT. A) Farb- oder grauton-kodierter Hornhautquerschnitt. B) Reflexionsprofil des Hornhautquerschnitt, wobei die vordere und hintere Grenzfläche zur manuellen oder automatischen Signalanalyse genutzt werden.

Ein Problem bei der Darstellung von OCT Messungen entstand, wenn die Proben aus Materialien mit unterschiedlichen Brechungsindices bestanden. Dann benötigte das Licht beim Durchgang durch ein Material mit größerem Brechungsindex eine längere Laufzeit als in der Umgebung mit kleinerem Brechungsindex. Dies konnte zu einer verzerrten Darstellung des Objekts führen. Da aber der Brechungsindex des untersuchten Materials bekannt war, konnten die entstehenden Fehler meist numerisch beseitigt werden. Auf der anderen Seite konnten einige Gewebe nur durch deren unterschiedliche optische Eigenschaften, d.h. ihre unterschiedlichen Brechungsindices, dargestellt werden.

Die Strukturen innerhalb des Auges wurden um den Brechungsindexfaktor des jeweiligen Mediums zu groß dargestellt, da sich die Laufzeit des Lichtes proportional zum Brechungsindex des Mediums verlängerte. Zur axialen Entzerrung mussten alle gemessenen Tiefen durch die jeweiligen

Brechungsindizes geteilt werden [Koop 1997]. Zur Umrechnung der optischen Weglängen in geometrische Dicken wurde der refraktive Gruppen-Index der Hornhaut von 1,3853 (830 nm) [Hitzenberger 1998] oder 1,389 (1310 nm) [Lin 2004] gewählt. Bei der Bestimmung der Kammerwinkelstrukturen oder der Sklera wurde ein Brechungsindex von 1,33 für okuläres Gewebe angenommen.

Um optische Verzerrungen und Verfälschungen zu vermeiden, wurden die Messungen in den vorgestellten Untersuchungen senkrecht zur Hornhaut über das Zentrum der unerweiterten Pupille oder senkrecht zum untersuchten Gewebe, wie beispielsweise dem Kammerwinkel, durchgeführt.

Zur Erfassung und weiteren Bearbeitung der digitalisierten Schnittbilder wurden spezielle Computerprogramme (LabWiz, Version 1.0, und OCTEval, Version 1.1, 4Optics AG) angewandt. Die Auswertungsprogramme bestanden aus vier Anteilen, d.h. dem OCT-Bild, der Scan-Anzeige, dem Ergebnisexplorer sowie der Ergebnisanzeige. Im Fenster des OCT-Bildes wurden neben dem eigentlichen Bild auch Elemente wie Oberflächen, die Position des in der Scan-Anzeige dargestellten A-Scans und weitere Elemente dargestellt. Zum anderen konnte die Farbpalette des OCT-Bildes verändert werden. Die Auswertungsfunktionen innerhalb des OCT-Bildes wurden über die Knöpfe der Werkzeugleiste angewählt. Die Auswertungsmöglichkeiten ermöglichten es, Winkel, Kreise und Linien bzw. Strecken zu erfassen und zu berechnen.

7.4. Anwendung einer Wellenlänge bei 1310 nm für den vorderen Augenabschnitt

Nach der Entwicklung des ersten Prototypen mit einer Infraroten-Lichtquelle mit einer Wellenlänge bei 830 nm [Hoerauf 2000a, Wirbelauer 2000b, 2001a] erfolgte die Weiterentwicklung mit einer Wellenlänge bei 1310 nm für den experimentellen [Hoerauf 2000b, 2002] und klinischen Einsatz [Wirbelauer 2003a, 2004c]. Dies ermöglichte, durch veränderte Streuungseigenschaften, eine bessere Darstellung der Hornhaut, da bei dieser Wellenlänge eine stärkere Absorption und geringere Rückstreuung des reflektierten Lichtes bestand. Dadurch verbesserte sich auch die Trennschärfe der dargestellten Strukturen, wie beispielsweise bei der Bestimmung der Hornhautdicke oder des Epithels [Wirbelauer 2004c]. Allerdings verringerte sich die Eindringtiefe im Vergleich zu einer Wellenlänge bei 830 nm von 10 cm auf etwa 1 cm erheblich (Abbildung 13).

Deshalb eignete sich eine Wellenlänge von 1310 nm besonders für die Darstellung der Hornhaut und des vorderen Augenabschnitt (VAA) während eine Wellenlänge von 830 nm zur Netzhautdiagnostik eingesetzt wurde. Eine Wellenlänge von 1500 nm wurde in anderen Bereichen angewandt (Abbildung 13).

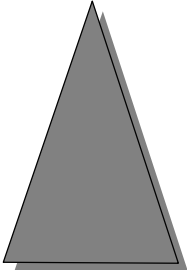
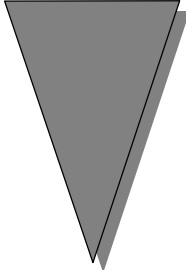
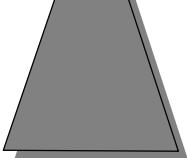
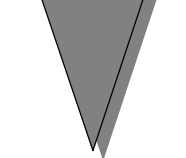


Wellenlänge	Absorption	Streuung	Eindringtiefe	Anwendung
830 nm			10 cm	Netzhaut
1310 nm			1 cm	VAA
1500 nm			100 µm	Epidermis

Abbildung 13: Eigenschaften unterschiedlicher Wellenlängen für die Lichtquelle der Optischen Kohärenz-Tomographie (OCT).