SEMINÁRIO

Interferometria Óptica de Baixa Coerência em Imagiologia Biomédica

Princípios, Tecnologia e Aplicações

António Barbosa Lobo Ribeiro

Provas de Agregação

Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Documento ao abrigo da alínea c) do Artigo 5º do Decreto-Lei nº 239/2007 de 19 de Junho

Fevereiro 2013

DOI: 10.13140/RG.2.1.1164.3363

1. Sumário

A Instrumentação Óptica, em particular a utilizada em aplicações biomédicas, constitui o enquadramento científico destas Provas de Agregação. Deste modo o *Seminário* deverá abordar um tema compatível com esta envolvente científica, tendo-se igualmente tentado que constituísse uma oportunidade para descrever e comparar diferentes tecnologias com impacto neste domínio tão diverso, não perdendo sempre a perspectiva da evolução histórica, os desenvolvimentos tecnológicos e as tendências para o futuro.

Sendo este o objectivo principal, optou-se por focar este Seminário na descrição e aplicação de uma solução tecnológica que tem sido desenvolvida ao longo do tempo para resolver um problema concreto e de relevância prática: a medição e correspondente visualização (imagiologia) das microestruturas que compõem um dado elemento físico. Inicialmente bastante utilizada na indústria electrónica e de semicondutores para medição e visualização 3D dos perfis do substrato, começou a ser testada no início dos anos 90 em tecidos biológicos e é hoje uma técnica de imagiologia em franco desenvolvimento e comercialização, tanto em aplicações biomédicas como industriais.

O Seminário inicia-se com uma descrição sucinta das várias técnicas de imagiologia biomédica, tentando centrar a comparação tecnológica entre os vários níveis de penetração no tecido, as resoluções espaciais conseguidas e as exigências relativas a segurança radiológica. Ao fazê-lo torna-se compreensível como várias tecnologias foram e continuam a ser importantes na Instrumentação Biomédica, possibilitando uma análise comparativa dos desempenhos que proporcionam na Imagiologia. Depois é apresentada uma classificação das várias modalidades de imagiologia óptica para aplicações biomédicas.

Na sequência, inicia-se a explicação do princípio físico que está por base no tipo de interferometria óptica de baixa coerência (também designada por interferometria de "luz-branca"), e onde as características espectrais da fonte óptica utilizada tem uma relevância primordial no desempenho de um sistema óptico deste tipo. Apresentam-se diferentes fontes ópticas utilizadas neste tipo de sistemas ópticos, bem como uma comparação das características de emissão de radiação das mesmas. Um destaque especial é dedicado às fontes ópticas baseadas em tecnologia de fibra óptica que foram recentemente desenvolvidas, em particular, fontes ópticas com espectro de emissão centrado o comprimento de onda de 1060 nm, devido à vantagem de penetração óptica conseguida na visualização tomográfica da coróide humana em oftalmologia.

Passa-se de seguida, à descrição das várias versões interferométricas da baixa coerência que foram desenvolvidas durante os últimos anos para aplicações biomédicas. Numa fase inicial, dá-se ênfase ao tipo de topologia da configuração utilizada através de uma descrição dos sistemas ópticos. Na fase seguinte apresenta-se uma descrição dos vários mecanismos de varrimento mais usados nestes sistemas de tomografia óptica.

Apesar da tomografia de coerência óptica (conhecida geralmente pela sigla OCT, acrónimo inglês de Optical Coherence Tomography) ter sido inicialmente aplicada e utilizada na área médica de Oftalmogologia, tem sido alargada a outros campos de aplicação biomédica, como sejam, a Cardiologia, Otorrinolaringologia, Urologia, Dermatologia, apenas para referir alguns. Neste contexto, faz-se uma descrição sucinta de algumas das áreas de aplicação desta tecnologia em Medicina, bem como desenvolvimentos tecnológicos mais recentes no que respeita a sistemas endoscópicos que possibilitam obtenção topográfica das microestruturas internas dos tecidos biológicos.

A apresentação termina com algumas reflexões sobre a previsível evolução das tecnologias de tomografia óptica coerente, bem como a implementação da interferometria de baixa coerência combinada com outras técnicas ópticas que potenciem a medição multi-parâmetro das microestruturas que compõem os tecidos biológicos.

2. Interferometria Óptica de Baixa Coerência

Em Física, a interferência é um fenómeno em que duas ou mais ondas se sobrepõem resultando numa onda de maior ou menor amplitude (interferência construtiva ou destrutiva, respectivamente), que não coincide com a soma das amplitudes de cada onda individual. No caso presente em estudo (interferometria óptica), a interferência que é gerada por ondas electromagnéticas (ondas de luz) que se propagam num dado meio só ocorre quando se verifica um conjunto de condições: as ondas incidentes partilham a mesma direcção de vibração (polarização), coexistem espacialmente (localização), e apresentam alguma correlação entre si (coerência). Esta 'coerência' está directamente relacionada com o tipo de distribuição espectral de emissão da fonte óptica que origina as ondas de luz, sendo que a sua característica temporal (coerência temporal) determina em grande medida o padrão de interferência gerado. Quando a diferença de percurso óptico entre duas ondas de luz é menor que o comprimento de coerência da fonte óptica[†], a interferência ocorre.

A interferometria óptica de baixa coerência (também conhecida como interferometria de 'luz-branca') é baseada neste pormenor do comprimento de coerência da fonte ser bastante menor do que a diferença de percurso óptico do interferómetro em utilização. Analisando o padrão de interferência óptico produzido pelo interferómetro, é possível extrair com grande precisão e resolução características do meio físico onde se propagam as ondas. O interferómetro mais utilizado nestas aplicações é o interferómetro de Michelson devido à sua versatilidade e facilidade de construção, embora outras configurações interferométricas (Mach-Zehnder, Fabry-Perot, Fizeau, etc.) possam também ser utilizadas. A figura 1 mostra o esquema de um interferómetro de Michelson iluminado por uma fonte óptica de baixa coerência (isto é, baixa coerência temporal).



Fig. 1 - Esquema simplificado de um Interferómetro de Michelson iluminado por um fonte de baixa coerência

A radiação emitida pela fonte é dividida em duas ondas independentes (mas correlacionadas) através de um divisor óptico. As duas ondas propagam-se em percursos ópticos distintos: um percurso designado de "referência", em que as condições de propagação são bem controladas, e um outro, percurso designado por "objecto", que envolve ou poderá envolver o objecto ou amostra em estudo. Os dois percursos terminam novamente no divisor óptico, onde as duas ondas são recombinadas e interferem entre si. Dependendo do comprimento (óptico) dos dois percursos, haverá um atraso temporal (τ) entre as ondas de "referência" e do "objecto", de tal forma que, se este

[†] É mais correcto referir-se a tempo de coerência da fonte, ao qual corresponde um dado comprimento de coerência, e que não deve ser confundido com a coerência espacial da fonte, que está associada à correlação entre diferentes pontos emissores.

for igual ou menor que o tempo coerência da fonte óptica, obtemos um sinal interferométrico que pode ser expresso matematicamente em termos de intensidade óptica pela forma [1,2]:

$$I(\tau_r) = Const + 2I_0 \sum_n \sqrt{a_n a_r} \cdot \left| \gamma(\tau_n) \right| \cdot \cos\left(\frac{2\pi}{\lambda} n_0 \Delta z_n\right)$$
(1)

em que, I_0 é a intensidade da luz emitida pela fonte óptica e que ilumina o interferómetro; $a_r e a_n$ são os valores de atenuação da luz nos percurso de "referência" e do "objecto" respetivamente, e que englobam a reflectividade e atenuação da camada de ordem-*n* do objecto e o coeficiente de reflectividade do espelho de referência; λ é o comprimento de onda central de emissão da fonte óptica; n_0 é o índice de refração do meio; Δz_n é a diferença física entre os percursos de "referência" e da camada de ordem-*n* do "objecto"; e o $|\gamma(\tau_n)|$ representa a função de coerência normalizada que depende do perfil espectral da fonte óptica usada.

A figura 2 mostra-nos uma representação gráfica do tipo de sinal de intensidade luminosa (conhecido também por interferograma ou função de visibilidade) que se obtém na fotodetecção do interferómetro em função da dimensão axial do objecto (z), quando este é iluminado por fontes ópticas com dois tipos distintos de perfil espectral de emissão: (a) iluminação com fonte óptica bastante coerente (por exemplo, um laser de HeNe), e (b) iluminação com fonte óptica de baixa coerência (por exemplo, um díodo superluminescente com comprimento de coerência, *l*_c).



Fig. 2 - Interferograma proveniente de uma fonte óptica (a) coerente e (b) de baixa coerência

A informação sobre a estrutura axial do objecto (composto por *n*-camadas localizadas axialmente em distâncias diferentes z_n e separadas por meios com índices de refracção ligeiramente diferentes) que é iluminado pela radiação de baixa coerência, é obtida pelo registo do interferograma produzido durante variação da posição (varrimento) do espelho de referência. Essa informação está codificada no argumento da função cosseno da relação (1) e que tem o seu valor máximo e não-ambíguo modulado pela curva espectral da fonte óptica que apresenta um comprimento de coerência (I_c). Em concreto, este comprimento de coerência da fonte depende das características do seu espectro de emissão, e normalmente é definido por (perfil Gaussiano) [1,2]:

$$l_c = \frac{4\ln 2}{\pi n} \cdot \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda} \tag{2}$$

onde, *n* é o índice de refracção do objecto, λ_0 representa o comprimento de onda central de emissão da fonte óptica e $\Delta\lambda$ a sua largura espectral medida a meia altura. Isto significa que a resolução axial do sistema é metade deste valor, isto é, $\Delta z_{axial} = l_c / 2$ (não esquecer que a radiação se propaga duas vezes em cada percurso do interferómetro). É aqui que reside o ponto fulcral desta técnica interferométrica, isto porque, para gerar uma maior resolução axial é necessário que interferómetro seja iluminado por fontes de espectro muito largo, isto é, a largura espectral a meia altura ser grande.

3. Tomografia Óptica de Coerência

A tomografia óptica de coerência é fundamentalmente uma generalização da interferometria de baixa coerência, em que o objecto (ou amostra em estudo) é "seccionado opticamente" através do deslocamento do espelho de referência do interferómetro (ver Fig. 1), e o sistema de fotodetecção recolhe a luz retro-reflectida ao longo da direcção de propagação do feixe incidente na amostra. Este funcionamento parece semelhante ao de um microscópio (tradicional, ou confocal), excepto no facto de que a amostra analisada não necessita de ser prévia e fisicamente preparada em finas fatias, como requerido em microscopia. Ou seja, o próprio feixe óptico de baixa coerência, ilumina a amostra e executa o seu seccionamento longitudinal com uma resolução espacial muito elevada (da ordem de 1 a 10 µm), de uma forma não-invasiva, em 'tempo-real' e '*in-vivo*'.

Em tecidos biológicos, o sinal interferométrico do fotodetector resulta da sobreposição da reflectividade da amostra que é constituída por meios estruturados (fotões que são retro-difundidos por espalhamento nos tecidos) e com distribuições contínuas de centros difusores (absorção da radiação pelos tecidos). Na presença de múltiplas camadas reflectoras ao longo do percurso da amostra, o varrimento do espelho de referência com uma precisão mais fina que o comprimento de coerência revelará conjuntos de franjas de interferência localizadas sempre que o atraso da referência sintoniza o interferómetro para cada uma das superfícies reflectoras (ver exemplo de interferograma na Fig.1). Assim, associando a este seccionamento longitudinal o seccionamento óptico na direcção transversal ao feixe sobre a amostra, podem construir-se mapas tridimensionais com resoluções longitudinais e transversais (sub)micrométricas. Daqui resulta o nome "Tomografia" (dos termos gregos *tomos*, que significa "parte" ou "secção" e *grafein* que significa "escrever").

A figura 3 mostra a imagem (não tratada) de tomografia de coerência óptica 'in-vivo' proveniente de dois 'cortes de secção' da uma parte da região da retina humana [3] e onde se pode distinguir alguns elementos que compõem a anatomia da retina, como por exemplo, o epitélio pigmentar, fóvea, lâmina cribrosa e a coróide.



Fig. 3 – Imagens OCT 'in-vivo' da secção-recta olho humano (dimensão lateral: 6 mm, dimensão axial: 2.5 mm, ON: Nervo Optico, RPE: Epitélio pigmentado da retina) [3].

Durante o seminário serão apresentadas outras imagens OCT, nomeadamente um curto vídeo de uma imagem OCT tridimensional da retina, onde com ajuda de software dedicado, é possível visualizar os vasos sanguíneos da retina.

3.1. Tomografia Óptica de Coerência: no Domínio-Espectral

A necessidade de obter imagens de tomografia óptica coerente em 'tempo-real', implica aumentar a velocidade de varrimento do espelho de referencia e consequentemente o sistema de processamento de sinal, o que coloca dificuldades de construção no sistema interferométrico. Uma de muitas ideias para resolver este e outros problemas associados a esta questão, é o de obter a imagem da amostra a partir do interferograma espectral (também conhecido como domínio de Fourier). Com esta técnica, o percurso de referência fica estático visto que a informação contida no interferograma é adquirida por detectores espectralmente separados (como uma rede de difracção e uma série de fotodetectores lineares, como CCDs). Devido à relação de Fourier (teorema de Wiener-Khintchine, entre a correlação automática e a densidade de potência espectral) a profundidade de digitalização pode ser imediatamente calculada por uma transformada inversa de Fourier a partir dos espectros adquiridos, sem movimento do espelho de referência. Esta característica melhora a velocidade de aquisição da imagem de forma dramática, reduzindo as perdas ópticas durante o varrimento o que por sua vez melhora a relação sinal-ruído da detecção. A figura 4 apresenta o esquema de implementação desta técnica, geralmente designada pela sigla SD-OCT, do acrónimo inglês Spectral Domain Optical Coherence Tomography.



Fig. 4 - Esquema simplificado do sistema SD-OCT com interferómetro de Michelson.

Uma outra variante da técnica no domínio espectral consiste em utilizar uma fonte laser sintonizável (ou de varrimento) e um fotodetector. Neste caso a frequência óptica de emissão do laser é 'varrida' ao longo de uma banda espectral larga, e as componentes espectrais deixam de ser codificadas por uma separação espacial, como no caso anterior, passando a estar codificadas por uma separação temporal. O espectro é gerado num único varrimento espectral e reconstruído antes da transformação de Fourier. Pela utilização de um comprimento de onda sintonizável ao longo de toda a banda espectral de emissão, a configuração óptica torna-se mais simples do que no caso SD-OCT, visto que o problema de varrimento é transferido para a fonte óptica e não para o percurso do espelho de referência. Aqui, a vantagem reside na elevada relação sinal-ruído da tecnologia de fotodetecção e nas fontes de laser sintonizáveis que apresentam riscas espectrais de emissão muito estritas, e conseguem frequências de varrimento altas (200 kHz). As desvantagens são as não-linearidades no comprimento de onda de emissão do laser (especialmente nas frequências de varrimento altas), o alargamento da risca de emissão e uma alta sensibilidade aos movimentos da amostra . A figura 5 apresenta o esquema de implementação desta técnica com fonte laser sintonizável, geralmente designada pela sigla SS-OCT, do acrónimo inglês *Swept Source Optical Coherence Tomography*.

A figura 6 mostra a reconstrução de uma imagem tridimensional de uma parte da região da retina humana, obtida 'in-vivo' com a técnica SS-OCT [4]. Nesta imagem tridimensional reconstruída (o vídeo desta reconstrução 3D irá ser mostrado durante o seminário), podem-se distinguir (por coloração computacional) os vasos sanguíneos da coróide da retina humana. O laser sintonizável usado nesta imagem operava num comprimento de onda central de emissão de 1060 nm, com uma gama espectral de sintonia de 72 nm, frequência de varrimento de 28 kHz e potencia óptica máxima emitida de 4 mW. A configuração utilizava um interferómetro de Mach-Zehnder em vez do de Michelson.



Fig. 5 - Esquema simplificado do sistema SS-OCT com interferómetro de Michelson.



Fig. 6 - Reconstrução 3D dos vasos da coróide (cor laranja) de uma cabeça do nervo óptico humano, sobreposta pela intensidade OCT (mapa de cores invertidas a cinza). O volume é seccionado ao longo da profundidade, onde o plano de corte é ligeiramente inclinado em relação ao plano *en-face* [4].

3.2. Tomografia Óptica de Coerência: Aplicações

Esta técnica de imagiologia óptica tem tido um enorme crescimento tecnológico na última década, em especial, nas aplicações de imagiologia médica em Oftalmologia. Contudo, outras áreas de aplicação médica têm tido oportunidade de beneficiar com a Tomografia Óptica de Coerência. Uma das áreas que tem tido grande desenvolvimento tecnológico é o da Cardiologia, com a implementação de OCT endoscópica para melhor compreensão e análise 'in-vivo' da arteriosclerose coronária, e também na monitorização de intervenções intravasculares, como por exemplo, na colocação de endoprótese coronária expansível (mais conhecido em inglês por *stent*) ou numa angioplastia. Com estes "endoscópios tomográficos", é possível realizar imagiologia tridimensional com grande velocidade de aquisição da estrutura interior das artérias, permitindo um melhor conhecimento dos factores associados ao enfarte de miocárdio. A figura 7 mostra um exemplo de uma imagem OCT volumétrica onde se consegue visualizar facilmente a endoprótese expansível (*stent*) aplicada numa artéria coronária de um porco [5]. Durante o seminário irá ser apresentado imagens OCT desta área da Cardiologia, bem como outras áreas da medicina, como por exemplo, Dermatologia, Gastroenterologia, Otorrinolaringologia, Ortopedia; mas também na áreas (bio)médicas associadas como análise histológica (Histologia) e em materiais dentários.

Em resumo, as aplicações da tomografia óptica de coerência estendem-se muito para além da Medicina, sendo certo, que esta tem atraído interesse considerável na Industria, nomeadamente, na industria de semicondutores,

havendo já resultados de OCT com resoluções abaixo do micrómetro, abrindo o caminho para a exploração da imagem tridimensional e metrologia no campo da Nanotecnologia.



Fig. 7 – Imagem OCT volumétrica de um stent colocado numa artéria coronária de um porco [5].

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A. B. Lobo Ribeiro, White-Light Interferometry: Applications to Fibre Optic Sensors for AC and DC Measurands, M.Sc. Thesis, University of Kent, UK, 1992.
- [2] W. Drexler and J. G. Fujimoto, Optical Coherence Tomography: Technology and Applications", Springer-Verlag, Berlin, 2008 (ISBN: 9783540775492).
- [3] I. Trifanov, P. Caldas, L. Neagu, R. Romero, M. O. Berendt, J. R. Salcedo, A. Gh. Podoleanu and A. B. Lobo Ribeiro, "Combined Neodymium-Ytterbium Doped ASE Fiber Optic Source for Optical Coherence Tomography Applications", IEEE Photon. Technol. Lett. 23 (1), 21-23 (2011).
- [4] Y. Yasuno, Y. Hong, S. Makita, M. Yamanari, M. Akiba, M. Miura and T. Yatagai, "In Vivo High-Contrast Imaging of Deep Posterior Eye by 1-µm Swept Source Optical Coherence Tomography and Scattering Optical Coherence Angiography", Optics Express 15 (10), 6121-6139 (2007).
- [5] S.H. Yun, G.J.Tearney, B.J. Vakoc, M. Shishkov, W.Y. Oh, A.E. Desjardins, M.J. Suter, R.C. Chan, J. A. Evans, I.K. Jang, N.S. Nishioka, J.F. de Boer, and B.E. Bouma, *Comprehensive volumetric optical microscopy in vivo*, Nature Medicine 12, 149-133 (2006).

SEMINÁRIO

Interferometria Óptica de Baixa Coerência em Imagiologia Biomédica

Princípios, Tecnologia e Aplicações

ANEXO [CÓPIA DOS SLIDES]

Provas de Agregação

Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Documento ao abrigo da alínea c) do Artigo 5º do Decreto-Lei nº 239/2007 de 19 de Junho

Novembro 2013

































agiologia (Bio	FC ^{faculdad}								
Comparação entre as Modalidades de Imagiologia									
Modalidade	Nível de Penetração	Profundidade Penetração	Resolução Espacial	Custo					
Radiografi	Orgão-Tecido	Full-body	~1 mm	Baixo					
CAT/TAC	Orgão-Tecido	Full-body	0.5 - 1 mm	Moderado					
MRI	Orgão-Tecido	Full-body	0.5 - 1 mm	Alto					
fMRI	Tecido-Celular	Full-body	mm	Elevado					
PET	Tecido-Celular-Molecular	Full-body	mm	Elevado					
SPECT	Tecido-Celular	Full-body	mm	Alto					
Ultra-sons	Orgão-Tecido	10 – 20 cm	100-200 μm	Baixo					
Microscopia Óptica	Tecido-Celular	<mm< td=""><td>μm</td><td>Baixo</td></mm<>	μm	Baixo					
Microscopia Fluorescente	Celular-Molecular	0.1 – 0.2 mm	1 – 2 μm	Baixo					
Microscopia Confocal (CM)	Tecido-Celular-Molecular	0.2 – 0.5 mm	1 - 20 µm	Baixo-Moderad					
Endoscopia	Tecido	Superfície	10-50 μm	Baixo					
Tomografia Óptica Difusa (DOT)	Celular-Molecular	cm	1-10 mm	Baixo					
Imagiologia por Ondas THz	Tecido	mm	25-400 μm	Alto					
Tomografia Óptica Coerente (OCT)	Tecido-Celular	1-3 mm	0.2-10 μm	Moderado					
		2.50	15 700						

































Inte	erferometria c	U. PORTO FC ^{ININVERSIDADE DO PORTO}								
 Tipos de fontes ópticas usadas em OCT 										
		Largura espectral	Região espectral	Potência óptica	Estabilidade óptica	Dimensões				
×	Superluminescent Diode (SLD)	+	+	~	++	++				
	MQW Semiconductor Optical Amplifier (MQW-SOA)	+	+	+	+	+				
	ASE Doped Fiber Sources	+	~	+++	++	++				
X	KLM Solid State Laser	++	++	++	+	~				
Ŗ	Incandescent Light Sources	+++	+		+	~				
×	Supercontinuum Sources	+++	+++	++	~	~				
ALobo/17 Dez.20	113					34				













































































