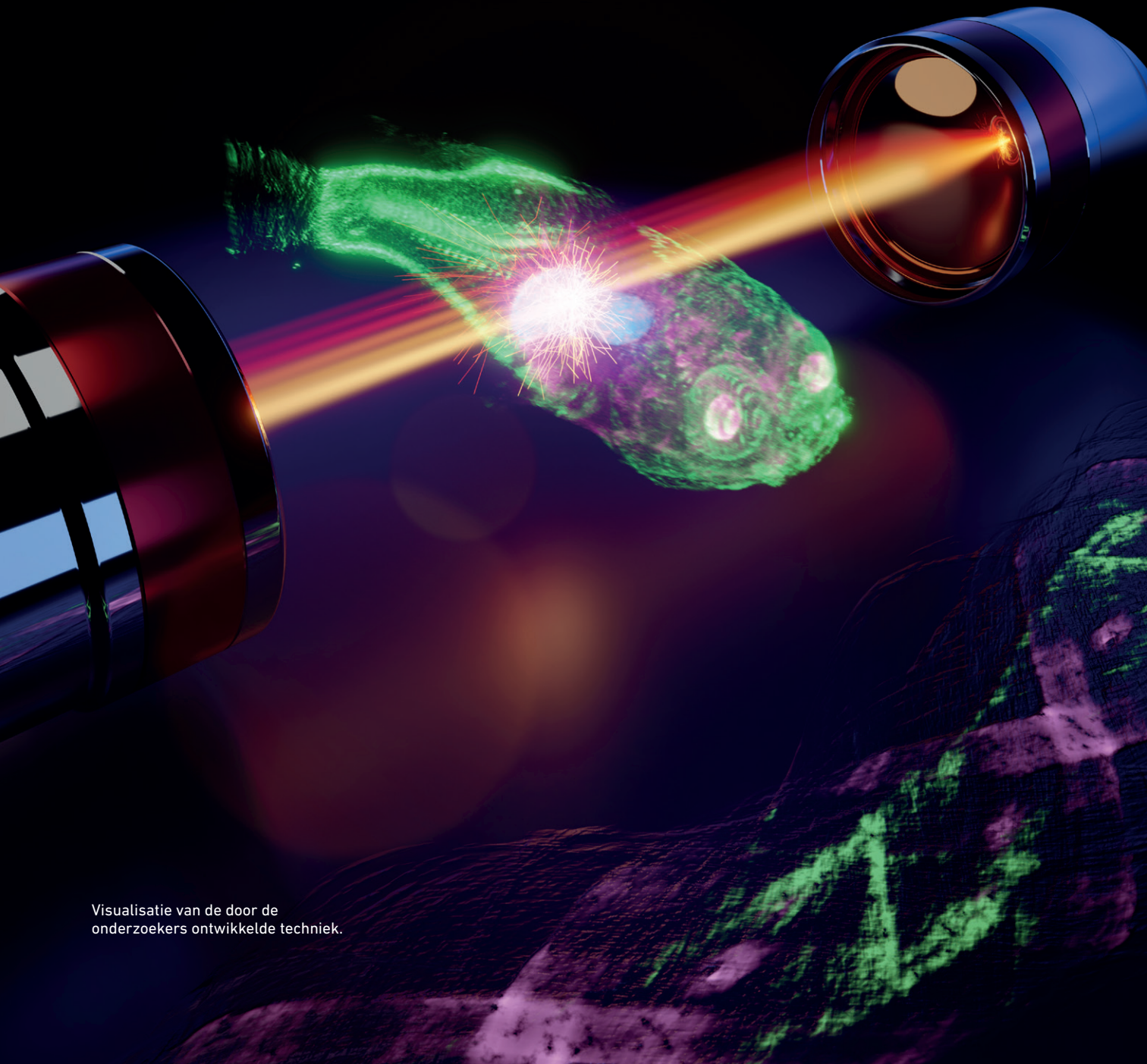


ONDERZOEKERS KIJKEN DIEP IN WEEFSEL



Visualisatie van de door de
onderzoekers ontwikkelde techniek.

Een van de grootste uitdagingen in biomedische beeldvorming is om met hoge resolutie diep in weefsel te kijken. Hoge resolutie is met zichtbaar licht makkelijk te verkrijgen. Maar afbeelden diep in weefsel is moeilijk omdat licht er sterk verstrooid wordt. Dit geeft bij toenemende diepte een sterk verlies van contrast en resolutie. Optische coherentietomografie (OCT) is een microscopietechniek die in reflectie werkt en door middel van laagcoherente interferometrie dwarsdoorsnedes van weefsels maakt (zie NTvN april 2015). Met 'reflectie'-OCT kun je ongeveer een millimeter diep kijken, maar voor grote dieptes nemen het contrast en de resolutie af. Daarnaast zijn reflectie-OCT-afbeeldingen geometrisch vervormd omdat ze afstand als optische padlengte bepalen en de brekingsindex niet uniform is. Zo rond 2011 begon het duidelijk te worden dat meten met OCT in transmissie voordelen heeft. In transmissie kan het ballistische licht – het niet verstrooide licht dat het kortste pad aflegt – worden gescheiden van het verstrooide licht – licht dat een langer pad aflegt. In tegenstelling tot reflectie-OCT, is in transmissie het ballistische licht niet verstoord door verstrooiing en kan daarom gebruikt worden voor het kwantitatief bepalen van de brekingsindex (uit de padlengte) en de optische verzwakingscoëfficiënt (uit de amplitude). In reflectie zijn deze moeilijk te bepalen omdat er dan geen onderscheid kan worden gemaakt tussen fysische lengte/brekingsindex en enkelvoudig/meervoudig verstrooid licht. Daarnaast is in transmissie de afbeeldingsdiepte ongeveer vier maal groter dan in reflectie. Een eerste factor twee wordt gewonnen door het niet meer heen- en teruggaan van het licht door hetzelfde weefsel. De andere factor twee wordt gewonnen door het feit dat in transmissie al het doorgelaten licht kan worden gemeten in plaats van het kleine deel van het verstrooide licht dat in reflectie wordt gedetecteerd (het deel dat op de lens valt). Een nadeel van meten in transmissie is dat gemeten signalen integralen over het object zijn en een directe

inversie, zoals in reflectie-OCT, niet mogelijk is. Met uit de röntgentomografie afkomstige algoritmen is het mogelijk om uit een groot aantal transmissiemetingen een kwantitatief en geometrisch correct 3D-beeld te reconstrueren.

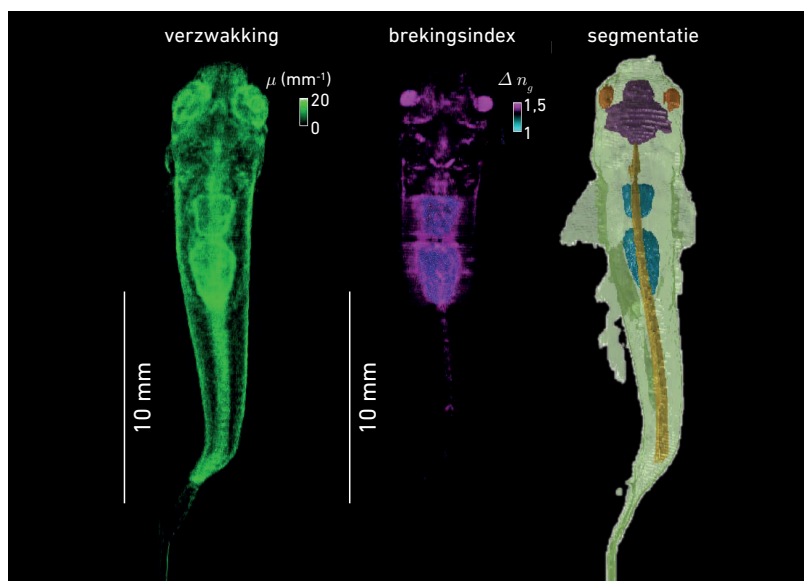
De onderzoekers hebben bovenstaande technieken toegepast op het het inwendige van beeldvormen van zebrevissen, zie figuur 1. Uit metingen van de amplitude en padlengte van het ballistische licht is een 3D-beeld van zowel de optische verzwakking (links) als de brekingsindex (midden) gemaakt. Verschillende structuren in de zebrevissen zijn duidelijk zichtbaar. Door digitale beeldverwerking kunnen uit deze beelden de zebrevissorganen in segmenten worden weergegeven (rechts). Groot voordeel in deze afbeeldingen is dat de ruimtelijke resolutie niet aangetast wordt door verstrooiing. Ook is geen sprake van geometrische vervorming omdat in tomografie het beeld wordt opgebouwd uit een aantal metingen onder geometrisch welbepaalde hoeken. Verder blijkt dat de afbeeldingsdiepte van vier millimeter in weefsel de fundamentele signaal-ruisverhoudingslimiet van het afbeeldingssysteem heel dicht benadert. In deze limiet is het

aantal ballistische fotonen maar een fractie 10^{-12} van het aantal inkomende fotonen (de rest is verstrooid of geabsorbeerd). Het is moeilijk verder voorbij deze grens te komen omdat het ballistische signaal exponentieel met de diepte afneemt.

Het op deze manier meten in weefsel zonder gebruik te maken van chemische stoffen die het weefsel transparant maken (opheldering) is belangrijk voor het afbeelden van zebrevissen en weefselbiopten. Zebrevissen zijn belangrijke proefdieren voor het (pre-klinisch) testen op toxiciteit en de effectiviteit van medicijnen. Met deze techniek kunnen 3D-afbeeldingen van niet opgehelderde zebrevissen gemaakt worden wat de diagnostiek kan verbeteren en de hoeveelheid benodigde proefdieren kan verminderen. Een andere toepassing is om weefselbiopten, zoals gebruikt voor kankerdiagnostiek, integraal en zonder gebruik van opheldering af te beelden. Artsen kunnen hiermee mogelijk sneller een betere diagnose stellen.

REFERENTIE

- 1 J. van der Horst, A.K. Trull en J. Kalkman, Deep-tissue label-free quantitative optical tomography, *Optica* 7, 1682 (2020).



Figuur 1. 3D-afbeelding van de verzwakking (links), brekingsindex (midden) en organen (rechts) van de zebrevissen.