



**dr Karol Karnowski**

Pracuje w ICHF PAN jako senior researcher w kierowanej przez prof. Wojtkowskiego grupie Fizyki Optycznej i Biofotoniki (projekty Imcustomeye oraz Create).

Od ponad 10 lat, wykorzystując metody optyczne, zajmuje się tematyką wczesnej diagnostyki biomedycznej

i różnicowania zmian chorobowych, m.in. poprzez

poprawę kontrastu metod obrazowania.

Dr Karnowski odbył 3-letni staż na Uniwersytecie Zachodniej

Australii (w grupie prof. Sampsona

obecnie pracującego na Uniwersytecie

Surrey). Dr Karnowski jest także liderem

Grupy Projektowej w ramach programu

Polskie Powroty finansowanego przez Narodową

Agencję Wymiany Międzynarodowej.

kkarnowski@ichf.edu.pl

# POSZUKIWACZE ZAGUBIONEGO KONTRASTU

## O tym, czym jest tomografia optyczna OCT i do czego służy oraz jakie są najnowsze metody usprawniania jej działania.

**dr Karol Karnowski**

Zakład Chemii Fizycznej Układów Biologicznych, Instytut Chemii Fizycznej, Polska Akademia Nauk

**W**iększość z nas miała styczność z metodą ultrasonografii, USG. Chociaż najczęściej kojarzy nam się ono z badaniami wykonywanymi w czasie ciąży, zakres jego zastosowań jest znacznie szerszy. USG polega na rejestracji echa fal dźwiękowych, które wysłane w stronę badanego obiektu odbijają się od warstw w jego wnętrzu.

Istnieje metoda pomiarowa będąca optycznym odpowiednikiem ultrasonografii. Zamiast dźwiękami próbkę oświetla się światłem (najczęściej z zakresu bliskiej podczerwieni) i rejestruje echo fali świetlnej. Ponieważ światło rozchodzi się znacznie szybciej niż fale dźwiękowe użyte w USG – w większości ośrodków nawet 200 tys. razy szybciej – nie jest możliwy bezpośredni pomiar echa fali świetlnej. Z pomocą przychodzi techniki interferometryczne. Światło rozproszone na warstwach obiektu „miesza” się ze światłem odbitym od zwierciadła referencyjnego, a z powstałego sygnału interferencyjnego odtwarza się strukturę badanego obiektu. W tomografii optycznej OCT (ang. Optical Coherence Tomography), bo o tej metodzie mowa, do pomiarów najczęściej używa się interferometru Michelsona. Warto tutaj wspomnieć, że pomysłodawca interferometru Albert Abraham Michelson, urodził się w 1852 r. w Strzelnie, miejscowości położonej w obecnym województwie kujawsko-pomorskim.

Czteroletni Albert wyemigrował z rodziną do USA i w 1907 r. otrzymał Nagrodę Nobla, stając się pierwszym amerykańskim noblistą z nauk ścisłych.

Tomografia OCT pozwala na obrazowanie morfologii tkanek z rozdzielczością rzędu 10 mikrometrów (dla porównania grubość włosa to 60–80 mikrometrów). Dla większości tkanek biologicznych pomiar ogranicza się do 1–2 mm pod powierzchnią obiektu i wynika z ograniczonej rozpraszaniem głębokości wnikania światła. Wyjątkowym obiektem jest ludzkie oko, które będąc częściowo przezroczystym dla światła, stało się jednym z pierwszych obiektów w obrazowaniu OCT. Układy OCT spotkać można obecnie w większości zakładów okulistycznych.

Obrazowanie oparte tylko na rejestracji światła rozproszonego od warstw lub struktur badanej tkanki nie zawsze pozwala na rozróżnianie zdrowej tkanki od obszarów dotkniętych zmianami chorobowymi. Przyczyną jest niewystarczający kontrast. Na szczęście technikę można rozszerzyć o funkcjonalności pozwalające na „odzyskanie zagubionego” kontrastu. Jak to zrobić?

### W poszukiwaniu ruchu

Jednym ze sposobów na zwiększenie kontrastu jest obrazowanie różnic między statycznymi obszarami tkanki a obszarami, w których naturalnie następuje ruch. Przykładem takiej naturalnej dynamiki jest przepływ krwi w systemie naczyń krwionośnych. Przepływająca krew powoduje zmianę sygnału rejestrowanego za pomocą OCT. Jeśli wykona się pomiar przynajmniej dwukrotnie i zaznaczy tylko te miejsca, gdzie sygnał OCT uległ zmianie, możliwe stanie się odtworzenie mapy naczyń krwionośnych.

DR KAROL KARNOWSKI



KAROL KARNOWSKI

Trzy zdjęcia przezroczystego grzebienia umieszczonego na szklanej płycie podświetlonej światłem z wyświetlacza LCD. Zalanie grzebienia gliceryną, która ma podobny współczynnik załamania jak materiał grzebienia, powoduje znaczną redukcję kontrastu (zdjęcie środkowe). Kontrast można w tym wypadku odzyskać za pomocą obrazowania w skrzyżowanych polaryzacjach (zdjęcie prawe).

Ponieważ tomografia OCT bazuje na interferencji (nakładaniu się fal) światła, na obrazach pojawia się szum charakterystyczny dla tej metody, zwany szumem plamkowym. Szum plamkowy można najprościej zaobserwować, oświetlając powierzchnię ściany światłem wskaźnika laserowego. „Światło rozproszone od nierównej powierzchni interferuje, w niektórych miejscach tworząc jasne punkty (interferencja konstruktywna), a w innych ciemne punkty (interferencja destruktywna), w efekcie czego powstaje charakterystyczny obraz plamek”. Szum plamkowy stanowi niepożądany element na obrazach OCT, ale ich jakość można poprawiać poprzez jego uśrednianie. Skutkiem ubocznym takiego zabiegu może być jednak pogorszenie rozdzielczości. Na szczęście czasami natura działa na naszą korzyść. W interdyscyplinarnym projekcie „Rozwój interferometrycznych metod optycznych do badania dynamiki układów biologicznych”, w ramach którego współpracowali fizycy z Instytutu Fizyki UMK z Torunia oraz Instytutu Chemii Fizycznej PAN, biolodzy z Wydziału Biologii Uniwersytetu Warszawskiego oraz programiści z Politechniki Poznańskiej, badaliśmy za pomocą tomografii optycznej zapłodnione komórki jajowe myszy. Bazując na naturalnych ruchach cytoplazmy komórki oraz organelli wewnątrzkomórkowych, a także na pomiarach wykonanych z różnymi odstępami czasowymi, mogliśmy uśrednić szum plamkowy odpowiadający dynamicznym zmianom w komórce. W efekcie uzyskaliśmy wysokiej jakości obrazy trójwymiarowe z kontrastem wystarczającym na wizualizację przedjądrzy, a także jąderek wewnątrz przedjądrzy, co nie było wcześniej możliwe bez inwazyjnego barwienia próbki i pomiarów mikroskopii fluorescencyjnej. Badania te prowadzone we współpracy z Instytutem Biologii Doświadczalnej PAN mogą mieć

zastosowanie w ocenie potencjału rozwojowego zarodków w procesie zapłodnienia in vitro.

Ruch cytoplazmy, który na pomiarach OCT widoczny jest jako dynamiczne zmiany wzoru, jaki tworzą plamki interferencyjne, może być użyty do oceny jakości procesów zachodzących tuż po zapłodnieniu komórki jajowej. Przeprowadzenie tego typu analiz pozwoli na wyselekcjonowanie najlepszych i najlepiej rokujących spośród zapłodnionych komórek i użycie ich w dalszych etapach procedury in vitro.

## Kolory uporządkowania

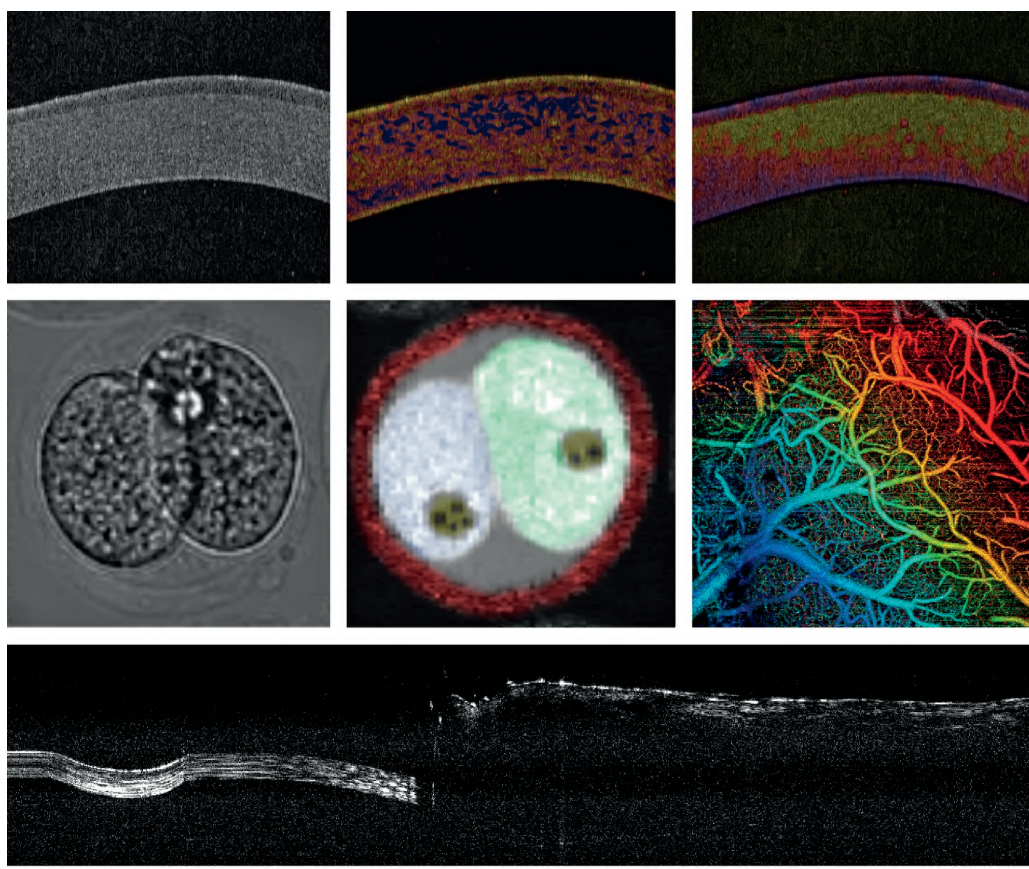
Bardzo ciekawym i obiecującym źródłem kontrastu są właściwości polaryzacyjne obiektu. Można to wytlumaczyć na przykładzie właściwości polaryzacyjnych przezroczystego plastiku. Jeśli w procesie produkcji (np. kształtowania plastiku do formy widelca) powstaną naprężenia w materiale – obserwator, stosując metodę skrzyżowanych polaryzacji, ujrzy kolorowy obraz. W wyniku lokalnych naprężeń jednorodny dotychczas materiał staje się niejednorodny. Obserwowane kolory są efektem wywołanej naprężeniami materiału dwójłomności, czyli zdolności materiału do podwójnego załamania promieni świetlnych. Ciekawym przykładem wymuszonej dwójłomności są światłowodów optyczne, które powstają w procesie „rozciągania” szklanych prętów do momentu osiągnięcia grubości włosa ludzkiego. W tkankach biologicznych wspomniana niejednorodność występuje dla niektórych elementów budulcowych tkanki, np. włókien kolagenowych czy warstwy elastyny. Dla przykładu mięśnie czy ścięgna składają się z mocno uporządkowanych elementów niejednorodnych geometrycznie – dlatego cechują się relatywnie wysoką dwójłomnością. Gdy

Góra: Obrazowanie rogówki oka ludzkiego za pomocą polaryzacyjnego OCT pozwala na zwiększenie kontrastu w stosunku do klasycznych obrazów OCT (ilustracja lewa). Zarówno mapowanie dwójłomności materiału (środkowa ilustracja), jak i właściwości depolaryzacyjnych (ilustracja prawa) zwiększa kontrast. Pomiary wykonano w laboratoriach grupy OBEL (Uniwersytet Zachodniej Australii).

Środek: Szum plamkowy pomaga poprawić kontrast. Analiza szumu plamkowego z powtórzonych pomiarów OCT (środkowa ilustracja) pozwala na wyodrębnienie struktur zapłodnionego oocytu, które są słabo- lub niewidoczne na klasycznym pomiarze mikroskopowym (ilustracja lewa). Analiza ruchu plamek pozwala na wizualizację sieci naczyń krwionośnych w mózgu myszy (ilustracja prawa).

Pomiary wykonano na Wydziale Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej UMK w Toruniu oraz Instytucie Chemii Fizycznej PAN.

Dół: Bezkontaktowy i bezpośredni pomiar odkształcenia rogówki, wywołanego strumieniem powietrza. Nim rogówka wróci do pierwotnego położenia obserwujemy reakcję pacjenta w postaci zamknięcia powiek (prawa połowa ilustracji). Pomiary wykonano na Wydziale Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej UMK w Toruniu.



w obrębie takiej uporządkowanej tkanki zaczynają się zmiany chorobowe (np. nowotworowe), powodują one zaburzenie tego uporządkowania i lokalne obniżenie dwójłomności.

Tomografia optyczna z kontrastem polaryzacyjnym (ang. polarization-sensitive OCT) oferuje zwiększony kontrast w stosunku do klasycznego OCT. Możemy obrazować dwójłomność struktur włóknistych, właściwości depolaryzacyjne tkanki (jak szybko zmienia się polaryzacja światła przy przechodzeniu przez tkankę) lub też orientację elementów dwójłomnych.

## Badanie dotykiem

Badanie palpacyjne, czyli diagnostyka (często auto-diagnostyka) zmian chorobowych przez dotyk, jest jednym z powszechnych elementów profilaktyki raka piersi lub jąder. Poprzez dotyk można próbować ocenić, czy jakieś fragmenty badanego narządu różnią się mechanicznie (twardość) od zdrowej tkanki. Ponieważ test palpacyjny ma charakter subiektywny, uczeni przez wiele lat opracowywali techniki bardziej obiektywnej analizy właściwości biomechanicznych badanych narządów. Mimo że poszczególne techniki różnią się szczegółami, ogólny schemat pozostaje ten sam. Stosując stymulację próbki (np. mechanicznie lub chemicznie), powoduje się jej odkształcenie, które zmierzone na przykład za

pomocą tomografii optycznej OCT służy do oceny właściwości biomechanicznych badanego obiektu. W wyniku działania tej samej siły fragmenty badanego obiektu, które są miękkie, odkształcają się bardziej. Sztywniejsze, twardsze obszary doznają mniejszego odkształcenia. Metody optyczne, takie jak OCT, pozwalają na ilościowy opis różnic między tkanką miękką a twardą. Przykładowo obszary dotknięte zmianami nowotworowymi są sztywniejsze od zdrowej tkanki i wspomnianą technikę można stosować np. w wyznaczaniu marginesu zmian nowotworowych przy usuwaniu guzów piersi.

## Jaka przyszłość czeka poszukiwaczy kontrastu

Od momentu pierwszych prac na tomografią optyczną, minęło już ponad 25 lat. Przewidywane przez wielu nasycenie tematyki związanej z OCT nie nastąpiło. Niezmiernie wielu naukowców na całym świecie pracuje nad zastosowaniami OCT w badaniach klinicznych. Silna grupa badaczy przełamuje ograniczenia techniczne i prowadzi badania podstawowe, które mogą prowadzić do kolejnych przełomów i kto wie – może nowe mechanizmy na poprawę kontrastu zostaną wkrótce zaproponowane.

KAROL KARNOWSKI

# ZMIANY KLIMATU

WYDANIE SPECJALNE

# ACADEMIA

[www.academia.pan.pl](http://www.academia.pan.pl)

