

VU Research Portal

Structural and spectroscopic in vivo imaging of the human retina with scanning light ophthalmoscopy

Damodaran, M.

2020

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Damodaran, M. (2020). *Structural and spectroscopic in vivo imaging of the human retina with scanning light ophthalmoscopy*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

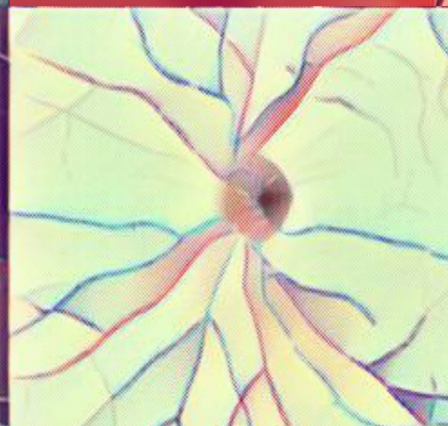
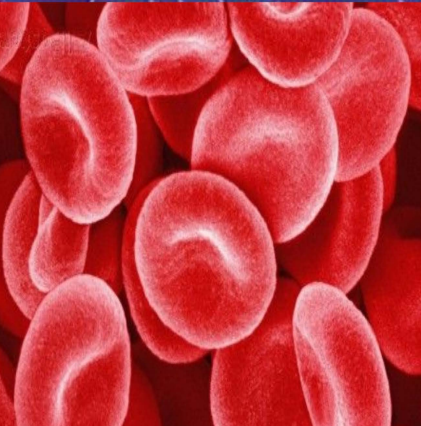
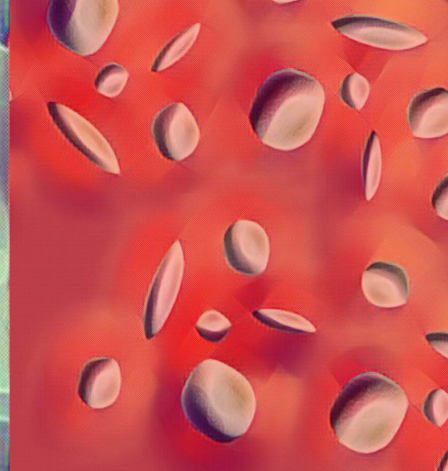
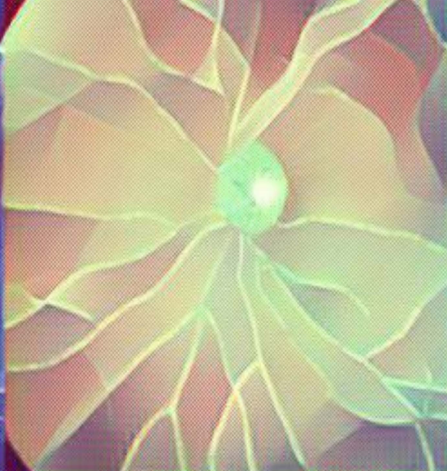
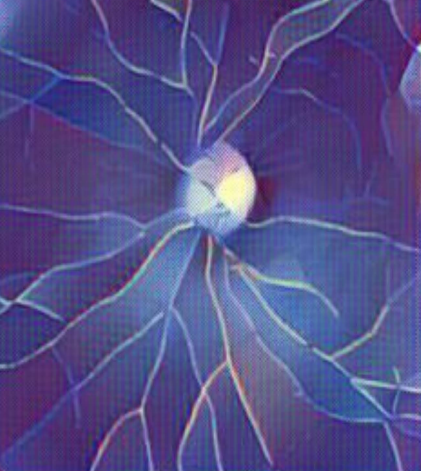
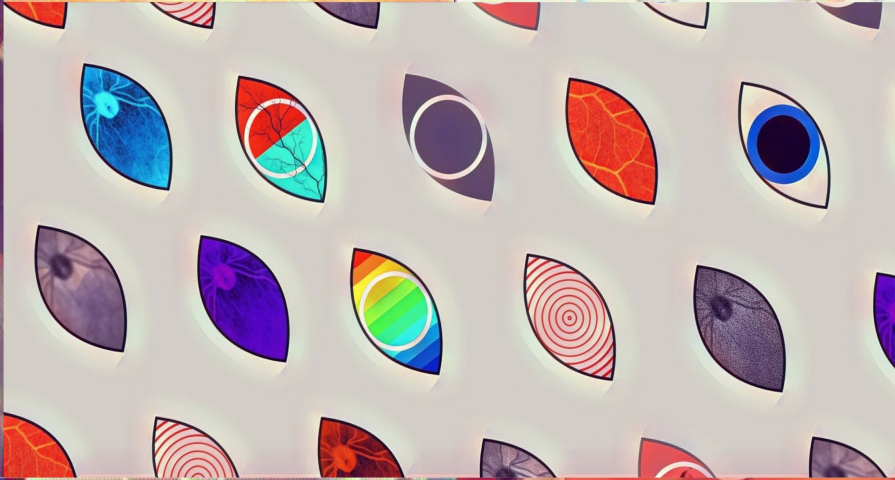
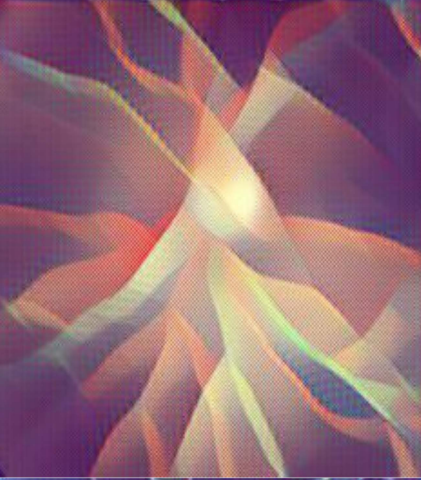
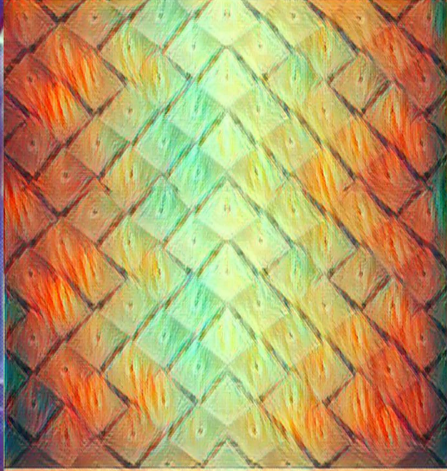
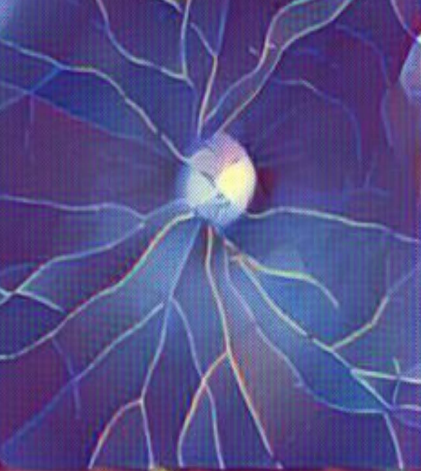
- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl



8

Summary

Ophthalmic imaging has been an active area of clinical investigation that has been expanding steadily, providing scientists and doctors with valuable information. New diagnostic and therapeutic methods have been established in this field, driven by an overall need to advance clinical care in ophthalmology. New scanning and imaging technologies have had a significant impact on ophthalmology. Structural imaging techniques help in visualising the retina in great detail and helps in assessing retinal health. However, the structure does not always provide information on the tissue health, and thus techniques which can provide a quantitative, functional aspect of living tissue is required in many cases. The work presented in this thesis aims to develop new devices and techniques which can perform imaging of the retina and to apply them for non-invasive imaging of structure and function in the *in vivo* human retina.

To extract structural and functional information from the retina using an SLO, it is essential to understand its design, construction, and working. For this purpose, **chapter 2** of this thesis discusses the principle of scanning based ophthalmic imaging systems, gives a brief explanation of various design considerations for constructing an SLO, and introduces the retinal oximetry and its importance in diagnosing various retinal diseases. Laser safety considerations for intentional exposure of the retina to the laser light is also described in detail. The knowledge from this chapter forms the basis of the scientific work presented in chapters 3 to 6.

In **Chapter 3**, a novel digital micromirror device (DMD) based SLO is presented. Concentric circle patterns were implemented as a scanning scheme to image the retina and provide fixation at the same time. The DMD was used *in lieu* of traditional scanning mirrors and offered flexibility in terms of speed and confocality. The concentric circles improved the fixation and reduced motion artefacts compared to previously implemented parallel line scanning design. An annulus was used to reduce the corneal reflections from the retina and thereby to increase the signal to noise ratio. *in vivo* imaging was demonstrated by performing non-mydratic imaging on two subjects at a speed of 7 frames per second with a maximum 20° (diameter) field of view. The images were shot noise limited and clearly show various anatomical features of the retina with high contrast. The images were comparable to images from a commercial SLOs but at a fraction of the cost.

Chapter 4 describes a detailed analysis of the error propagation of measurement noise in retinal oximetry, to identify optimal wavelengths which will yield the lowest uncertainty in saturation estimation for a given measurement noise level. The effect of haemoglobin packing in discrete blood vessels (pigment packing) is also introduced in this chapter. Pigment packing may result in a non-negligible bias in saturation estimation if unaccounted for under specific geometrical condi-

tions, such as sub-diffuse sampling of smaller blood vessels located deeper within the retina. To validate the analysis, an SLO was developed to produce high contrast images. Confocal reflectance measurements were then conducted on a tissue-mimicking scattering phantom with optical properties similar to retinal tissue, including narrow channels filled with absorbing dyes to mimic blood vessels. By imaging at three optimal wavelengths, the 'saturation' of the dye combination was calculated.

In **Chapter 5**, construction of an SLO based on a double-clad fibre coupler and a supercontinuum source is described in detail. Implementation of a balanced detection scheme to suppress the relative intensity noise of the supercontinuum source is also described with experiments validating the improvements in the signal to noise ratio with the use of balanced detection. The optimum wavelengths for accurate *in vivo* oximetry estimation using two wavelengths are established with an *in silico* analysis. The SLO produced dual-wavelength, high-quality images at 10 frames / second with a 20° imaging field of view. The blood oxygen saturation in retinal blood vessels was mapped from the images.

The eye provides a unique location in the human body with visual access to blood vessels. The blood vessels in the eye are regarded as highly superficial and thus is a desirable access point for Hb concentration estimation due to the lack of thick overlying tissues present elsewhere in the body. In **Chapter 6**, a non-invasive spectrophotometric method to image the retina simultaneously at two 'isosbestic' wavelengths, and then to extract the haemoglobin concentration values from the two images is described.

Finally, in **Chapter 7**, the discussion on the results obtained from the scientific work in chapters 3-6 is presented with an outlook for future research. The concluding remarks of the thesis are also given in this chapter.

Nederlandse Samenvetting

Oogheelkundige beeldvorming is een actief gebied van klinisch onderzoek dat gestaag uitbreidt en dat wetenschappers en artsen waardevolle informatie biedt. Nieuwe diagnostische en therapeutische methoden zijn op dit gebied vastgesteld vanuit een algemene behoefte om klinische zorg in de oogheelkunde te verbeteren.

Nieuwe scan- en beeld technologieën hebben een significante invloed op de oogheelkunde. Beeldvormingstechnieken die de structuur weergeven helpen bij het gedetailleerd visualiseren van het netvlies en daarmee het beoordelen van de gezondheid van het netvlies. Weefselstructuur geeft echter niet altijd informatie over de gezondheid van het weefsel en daarom zijn in veel gevallen technieken nodig die een kwantitatief, functioneel aspect van levend weefsel kunnen weergeven. Het doel van het werk dat gepresenteerd wordt in dit proefschrift is om nieuwe apparaten en technieken te ontwikkelen die beeldvorming van het netvlies kunnen uitvoeren, en deze toe te passen voor niet-invasieve beeldvorming van structuur en functie in het *in vivo* menselijk netvlies.

Om structurele en functionele informatie uit het netvlies te halen met behulp van een SLO, is het belangrijk om het ontwerp, de constructie en de werking ervan te begrijpen. Met dit doel bespreekt **Hoofdstuk 2** van dit proefschrift het principe van oogheelkundige beeldvormingssystemen die gebruik maken van scannen. Tevens geeft dit hoofdstuk een korte uitleg over verschillende ontwerpoverwegingen voor het construeren van een SLO en introduceert het retinale oximetrie en het belang ervan bij de diagnose van verschillende retinale ziekten. Laserveiligheidsoverwegingen voor het opzettelijke blootstelling van het netvlies aan het laserlicht worden ook in detail beschreven. De kennis uit dit hoofdstuk vormt de basis van het wetenschappelijke werk dat in de hoofdstukken 3 tot en met 6 wordt gepresenteerd.

In **Hoofdstuk 3** wordt een nieuwe SLO op basis van een digital micromirror device (DMD) gepresenteerd. Concentrische cirkelpatronen werden geïmplementeerd als een scanschema om het netvlies af te beelden en tegelijkertijd een fixatie te verschaffen. De DMD werd gebruikt in plaats van traditionele scan-spiegels en biedt flexibiliteit met betrekking tot snelheid en confocaliteit. De concentrische cirkels verbeterden de fixatie en verminderden bewegingsartefacten in vergelijking met het eerder geïmplementeerde ontwerp dat scande met een parallelle lijn. Een annulus werd gebruikt om de cornea-reflecties van het netvlies te verminderen en daarmee de signaal-ruisverhouding te vergroten. *In vivo* beeldvorming werd aangetoond door niet-mydriatische beeldvorming op twee participanten uit te voeren met een snelheid van 7 beelden per seconde en een maximum gezichtsveld van 20° (diameter). De beelden waren shotnoise gelimiteerd en tonen met een hoog

contrast duidelijk de verschillende anatomische kenmerken van het netvlies. De afbeeldingen waren vergelijkbaar met afbeeldingen van commerciële SLO's, maar slechts voor een fractie van de kosten.

Hoofdstuk 4 beschrijft een gedetailleerde analyse van de foutpropagatie van meetruis in retinale oximetrie, om zo optimale golflengten te identificeren die de kleinste onzekerheid opleveren in de verzadigingsschatting voor een bepaald meetruisniveau. Het effect van hemoglobineclustering in afzonderlijke bloedvaten (pigmentclustering) wordt ook in dit hoofdstuk geïntroduceerd. Pigmentclustering kan resulteren in een niet-verwaarloosbare bias bij het schatten van de verzadiging indien geen rekening gehouden wordt met de specifieke geometrische omstandigheden, zoals sub-diffuse bemonstering van kleinere bloedvaten dieper in het netvlies. Om de analyse te valideren werd een SLO ontwikkeld die beelden met een hoog contrast kon produceren. Confocale reflectiemetingen werden vervolgens uitgevoerd op een verstrooiend fantoom dat weefsel nabootst. Dit fantoom had optische eigenschappen vergelijkbaar met netvliesweefsel, inclusief smalle kanalen gevuld met absorberende kleurstoffen om bloedvaten na te bootsen. Door beeldvorming bij drie optimale golflengten werd de 'verzadiging' van de kleurstofcombinatie berekend.

In **Hoofdstuk 5** wordt de constructie van een SLO op basis van een double clad fiber coupler en een supercontinuümbrom in detail beschreven. De implementatie van een gebalanceerd detectieschema, om de relatieve intensiteitruis van de supercontinuümbrom te onderdrukken, wordt beschreven aan de hand van experimenten die de verbeteringen in de signaal / ruisverhouding valideren met behulp van gebalanceerde detectie. De optimale golflengten voor nauwkeurige *in vivo* oximetrieschatting met behulp van twee golflengten worden bepaald aan de hand van een *in silico* analyse. De SLO produceerde beelden van hoge kwaliteit met dubbele golflengte met 10 beelden per seconde en een gezichtsveld van 20°. De bloedzuurstofsaturatie in retinale bloedvaten werd in kaart gebracht aan de hand van de gemaakte afbeeldingen.

Het oog biedt een unieke locatie in het menselijk lichaam waar visuele toegang is tot de bloedvaten. De bloedvaten in het oog worden als zeer oppervlakkig beschouwd en zijn dus een gewenst toegangspunt voor schatting van de hemoglobineconcentratie, wegens het ontbreken van dikke bovenliggende weefsels die elders in het lichaam aanwezig zijn. In **Hoofdstuk 6** wordt een niet-invasieve spectrofotometrische methode beschreven om het netvlies tegelijkertijd op twee isobestische golflengten af te beelden en vervolgens hoe de hemoglobineconcentratiewaarden uit de twee afbeeldingen te extraheren is.

Ten slotte wordt in **hoofdstuk 7** de discussie over de resultaten van het in hoofd-

stuk 3-6 gepresenteerde wetenschappelijke werk besproken, met vooruitzichten voor toekomstig onderzoek. De slotopmerkingen van het proefschrift worden ook in dit hoofdstuk gegeven.

ஆய்வுச்சுருக்கம்

கண் என்பது நம் உடலின் முக்கியமான உறுப்பாகும். கண் நமக்குப் பார்வை உணர்வைத் தருவது மட்டுமல்லாமல், சுற்றியுள்ள உலகத்தை அவதானிக்கவும் அனுமதிக்கிறது. நாம் செய்யும் ஒவ்வொரு செயலிலும் நாம் நம் கண்களைப் பயன்படுத்துகிறோம். எனவே பார்வையைப் பாதிக்கும் எந்த ஒரு நோயும் ஒரு நபரின் வாழ்க்கைத் தரத்தில் எதிர்மறையான தாக்கத்தை ஏற்படுத்துகிறது.

வயது தொடர்பான நோய்கள் ஒரு குறிப்பிடத்தக்க பொது சுகாதார பிரச்சினையாக மாறியுள்ளன. குறிப்பாக, விழித்திரையில் (retina) ஏற்படும் நோய்கள் பார்வை செயல்பாட்டுக் குறைபாட்டையும் மற்றவர்களைச் சார்ந்திருக்கும் சூழ்நிலையையும் ஏற்படுத்தும். மிகவும் மோசமான நிலையில், ஒருவர் ஊனமுற்றவராக மாறுகிறார். உலக சுகாதார அமைப்பின் (WHO) கூற்றுப்படி, சுமார் 1.3 பில்லியன் (130 கோடி) மக்கள் ஏதேனும் ஒரு பார்வைக் குறைபாட்டுடன் வாழ்கின்றனர். அவர்களில் 270 மில்லியன் (27 கோடி) மக்கள் மிதமான அல்லது கடுமையான பார்வைக் குறைபாட்டைக் கொண்டுள்ளனர். உலகளவில் 80% பார்வைக் குறைபாடுகள் தவிர்க்கக்கூடிய குறைபாடுகளாகக் கருதப்படுகின்றன.

விழித்திரை என்பது கண்ணின் தலையாய பகுதியாகும். விழித்திரை நோய்கள் விழித்திரையில் கட்டமைப்பு (structural) மற்றும் செயல்பாட்டு (functional) மாற்றங்களை வெளிப்படுத்துகின்றன. விழித்திரை உருவமாக்கம் (retinal imaging) நுட்பங்களைப் பயன்படுத்தி அவை மதிப்பிடப்படுகின்றன. விழித்திரை நோய்களைப் பற்றிய நமது புரிதலுக்கும், பயனுள்ள மருத்துவ மதிப்பீடு, பின்தொடர்தல் மற்றும் சிகிச்சையிலும் விழித்திரை உருவமாக்கம் மிகவும் முக்கியமானது. இந்நுட்பங்கள் விஞ்ஞானிகளுக்கும் மருத்துவர்களுக்கும் மதிப்புமிக்க தகவல்களை வழங்குகின்றன. நவீன ஸ்கேனிங் மற்றும் இமேஜிங் தொழில்நுட்பங்கள் கண் மருத்துவத்தில் குறிப்பிடத்தக்க தாக்கத்தை ஏற்படுத்தியுள்ளன.

கட்டமைப்பு இமேஜிங் நுட்பங்கள் விழித்திரையை மிக விரிவாகக் காட்சிப்படுத்த உதவுகின்றன. விழித்திரை ஆரோக்கியத்தை மதிப்பிடுவதற்கும் இது உதவுகிறது. இருப்பினும், கட்டமைப்பு எப்போதும் விழித்திரை ஆரோக்கியம் குறித்த தகவல்களை வழங்குவதில்லை. இதனால் விழித்திரை அளவு மற்றும் செயல்பாட்டு அம்சத்தைக் கணக்கிட்டு வழங்கக்கூடிய நுட்பங்கள் பல்வேறு சந்தர்ப்பங்களிலும் பல்வேறு கண் நோய்களிலும் தேவைப்படுகின்றன.

விழித்திரை உருவமைப்பு முறைகளில் ஏற்பட்ட பல்வேறு முன்னேற்றங்களால் கடந்த இருபது வருடங்களில் கண் சிகிச்சை தரம் வெகுவாக மேம்பட்டுள்ளது. விழித்திரை நோய்களுக்கும் ஒளி பண்புகளுக்கும் (optical properties) இடையேயுள்ள தொடர்பைக் கண்டயறியக்கூடிய புதிய தொழில்நுட்பங்கள் உருவாக்கப்படவேண்டும். விழித்திரையின் உருவமாக்கம் செய்யக்கூடிய புதிய சாதனங்கள் மற்றும் நுட்பங்களை உருவாக்குவதும், மனித விழித்திரையில் கட்டமைப்பு மற்றும் செயல்பாட்டின் இமேஜிங்கிற்கு அவற்றைப் பயன்படுத்துவதும் இந்த ஆய்வின் முக்கிய நோக்கம் ஆகும். இவ்வாய்வு விழித்திரை இமேஜிங்கிற்கான இரண்டு முக்கிய அணுகுமுறைகளில் கவனம் செலுத்துகிறது:

1. குறைந்த விலை டிஜிட்டல் நுண்-கண்ணாடிகள் (digital micro mirror) அடிப்படையிலான 'வருடும் கிளர்கதிர் கண்ணோதனைக்கருவியை' (scanning laser ophthalmoscope/SLO) வடிவமைத்தல், அக்கருவியைக் கொண்டு விழித்திரையின் கட்டமைப்பை உருவமாக்குவது (அத்தியாயம் 3).

2. பன்னிற வருடும் கிளர்கதிர் கண்சோதனைக்கருவியை (multispectral SLO) வடிவமைத்தல் (அத்தியாயம் 3 மற்றும் 4), அக்கருவியைக் கொண்டு விழித்திரையைப் பலநிற கிளர்க்கதிர்களைக் கொண்டு உருவமாக்குதல் (அத்தியாயம் 4). மேலும் இப்பலநிற கிளர்கதிர் உருவங்களைக் கொண்டு விழித்திரையின் ஆக்சிஜனூட்டம் (அத்தியாயம் 4) மற்றும் ஹீமோகுளோபின் செறிவை (அத்தியாயம் 5) கண்டறிதல்.

அத்தியாயங்கள் 1 மற்றும் 2, இந்த ஆய்வறிக்கையின் நோக்கத்தையும் பயன்படுத்தப்பட்ட முறைகளையும் விளக்குகின்றன. அத்தியாயம் 7 இந்த ஆய்வறிக்கையின் நிறைவுரையையும் எதிர்கால கண்ணோட்டத்தையும் அளிக்கிறது.

