

TOMOGRAPHIE PAR COHÉRENCE OPTIQUE PLEIN CHAMP POUR L'IMAGERIE IN VIVO DE L'ŒIL HUMAIN

Viacheslav MAZLIN¹, Maxime BERTRAND², Kate GRIEVE^{3,4}, Claude BOCCARA¹, Pedro MECÊ^{1,*}

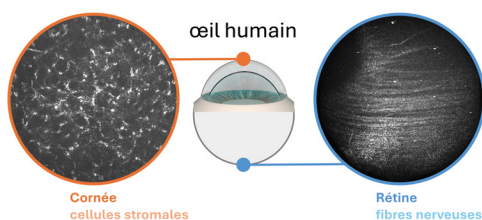
¹ Institut Langevin, ESPCI Paris, Université PSL, CNRS, 1 rue Jussieu, 75005 Paris, France,

² SharpEye SAS, Paris, France,

³ Sorbonne Université, INSERM, CNRS, Institut de la Vision, 17 rue Moreau, F-75012 Paris, France,

⁴ CHNO des Quinze-Vingts, INSERM-DGOS CIC 1423, 28 rue de Charenton, F-75012 Paris, France

*pedro.mece@espci.fr



<https://doi.org/10.1051/photon/202412741>

Article publié en accès libre sous les conditions définies par la licence Creative Commons Attribution License CC-BY (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), qui autorise sans restrictions l'utilisation, la diffusion, et la reproduction sur quelque support que ce soit, sous réserve de citation correcte de la publication originale.

Depuis de nombreuses années, l'OCT plein champ s'est imposée comme une méthode bien adaptée à l'imagerie d'échantillons biologiques ex vivo et in-vitro. Cependant, son utilisation in vivo pour imager la cornée et la rétine de l'œil humain faisait encore face à de nombreux défis. Dans cet article, nous présentons les principales solutions développées par notre groupe au cours des dernières années pour répondre à ces défis. Ces solutions ont permis de transformer l'OCT plein champ en un système clinique capable de fournir, pour la cornée et pour la rétine, des images à haute résolution 3D, à haute cadence d'acquisition et sur un large champ de vision.

La Tomographie par Cohérence Optique plein champ (ou OCT plein champ) repose sur l'utilisation d'un interféromètre de Michelson, dans lequel un faisceau lumineux issu d'une source à spectre large est divisé en deux, pour se propager à la fois dans un bras de référence et dans un bras échantillon. La lumière est alors réfléchie, ou rétrodiffusée, par un miroir de référence d'une part, et par l'échantillon d'autre part,

puis recombinaison pour générer des interférences capturées par une caméra 2D. En règle générale, l'OCT plein champ utilise une configuration dite de Linnik, dans laquelle deux objectifs de microscope identiques sont placés dans chaque bras de l'interféromètre. L'ouverture numérique des objectifs détermine la résolution latérale (environ 1 μm) de l'OCT plein champ. En revanche, dans les applications à ouverture numérique faible à moyenne telles que l'imagerie oculaire, la résolution

axiale de l'OCT plein champ est définie par la longueur de cohérence, qui est fonction de la largeur spectrale de la source lumineuse. La position de cette porte de cohérence définit l'épaisseur de la zone choisie dans la profondeur de l'échantillon où les interférences ont lieu et correspond à la longueur du chemin optique du bras de référence. Pour générer des images tomographiques, on utilise une modulation de phase pour éliminer le fond incohérent. La façon la plus courante de moduler la

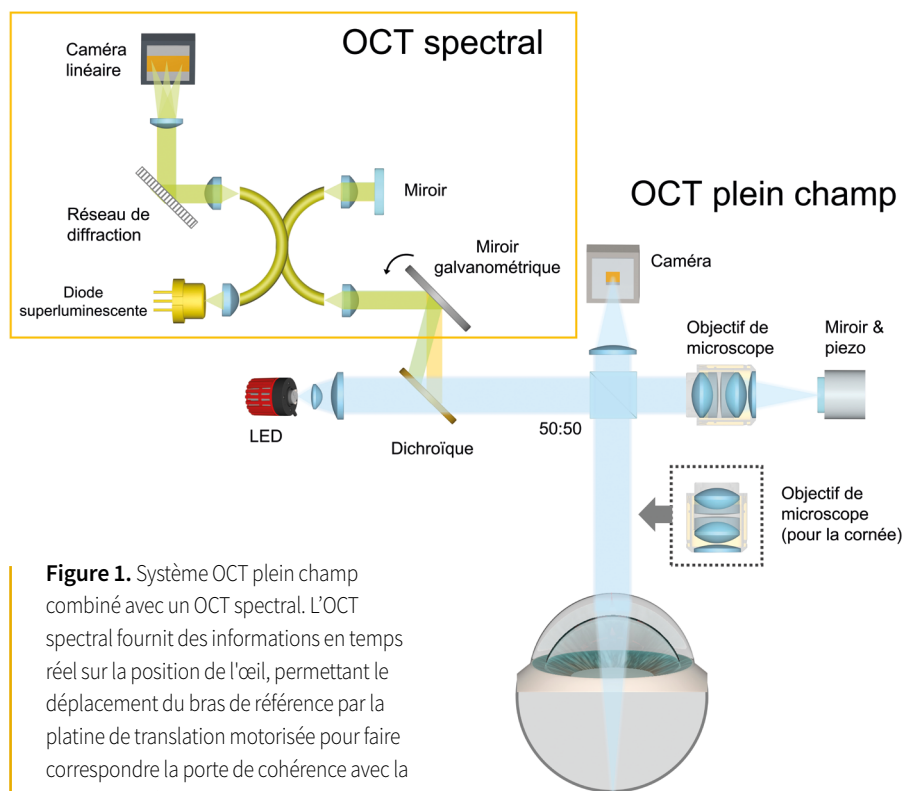


Figure 1. Système OCT plein champ combiné avec un OCT spectral. L'OCT spectral fournit des informations en temps réel sur la position de l'œil, permettant le déplacement du bras de référence par la platine de translation motorisée pour faire correspondre la porte de cohérence avec la couche d'intérêt.

phase consiste à faire varier rapidement la position du miroir de référence, qui est couplé à un transducteur piézoélectrique. Lorsque l'on utilise 3 phases ou plus pour la reconstruction tomographique, on peut séparer les informations d'amplitude et de phase de l'échantillon à une profondeur donnée, définie par la position et la largeur de la porte de cohérence. En raison de la modulation de la phase optique dans le temps, cette méthode est souvent appelée OCT plein champ dans le domaine temporel.

Depuis de nombreuses années, l'OCT plein champ est une méthode reconnue pour l'imagerie d'échantillons biologiques *ex-vivo* et *in-vitro*. Aujourd'hui, la technologie OCT plein champ s'avère particulièrement prometteuse dans le domaine de l'ophtalmologie. En effet, elle permet d'acquérir à grande vitesse des images avec une résolution 3D cellulaire sans avoir besoin d'un schéma de balayage point par point qui ralentit l'acquisition et ajoute

une distorsion induite par le mouvement de l'œil pendant l'acquisition, tel que c'est le cas pour les méthodes de microscopie confocale et d'OCT conventionnelles. Bien que le développement du premier OCT plein champ remonte à 1998, son utilisation en ophtalmologie *in vivo*, et plus précisément pour l'imagerie de la cornée et de la rétine humaines, n'a été rendue possible que très récemment. Ce décalage est le reflet des défis physiques et techniques imposés par l'imagerie *in vivo* avec cette méthode. Dans le cas de l'imagerie de l'œil, les principaux défis sont liés au mouvement de l'œil dans les trois dimensions, à la courbure de la cornée et de la rétine, aux aberrations oculaires, à la faible réflectivité des couches internes de la cornée et de la rétine, et enfin à la puissance lumineuse limitée par les normes de sécurité oculaire. Dans cet article, nous présentons les principales solutions développées par notre groupe au cours des dernières années pour répondre à ces défis.

AMÉLIORATION DE LA SENSIBILITÉ DE L'OCT PLEIN CHAMP

La caméra de l'OCT plein champ capture à la fois 1) les photons balistiques porteurs du signal d'intérêt et 2) les photons multi-diffusés, parasites, ou non focalisés provenant de l'œil et des autres composants optiques du montage. En l'absence de mécanismes de filtrage physique tels qu'un trou d'épingle ou une fente, la majorité des photons détectés sont du second type et peuvent diminuer la sensibilité de l'OCT plein champ. Pour augmenter cette sensibilité, une caméra dédiée a été mise au point. Cette caméra possède une profondeur de puits de 2Me^- , qui est 100 fois supérieure à celle des caméras CMOS conventionnelles, ce qui permet d'atteindre des niveaux de sensibilité de 60 à 80 dB dans l'œil. En outre, elle offre une vitesse d'acquisition élevée de 550 images par seconde à pleine résolution (1440×1440 pixels), ce qui permet de capturer des images tomographiques sur un large champ de vision en seulement 2 à 4 millisecondes, minimisant ainsi l'influence des mouvements de l'œil.

Dans la pratique, pour améliorer la sensibilité du système, une telle caméra doit fonctionner dans un régime proche de la saturation, nécessitant un nombre beaucoup plus important de photons, ce qui augmente potentiellement le risque de surexposition lumineuse de l'œil. Pour pallier ce problème et respecter les normes de sécurité oculaire, il est possible de répartir la puissance lumineuse dans le temps (illumination pulsée) et dans l'espace (densité de puissance répartie sur un champ de vision de l'ordre du millimètre carré).

Cette solution a permis d'acquérir les premières images de la cornée humaine *in vivo* en 2018 [1], révélant des cellules épithéliales superficielles, des nerfs sous-basaux, la membrane de Bowman, des noyaux de cellules kératocytaires, la membrane de Descemet ainsi que des cellules endothéliales. Dans des travaux plus récents, l'OCT plein champ a été utilisée pour

observer la région limbique de l'œil et a permis de visualiser les palissades de Vogt, les réseaux vasculaires, ainsi que les pores du réseau trabéculaire, connus pour jouer un rôle crucial dans la maladie du glaucome. Grâce à sa vitesse d'imagerie élevée, l'OCT plein champ a aussi permis d'étudier quantitativement des processus dynamiques du segment antérieur de l'œil, tels que l'évolution du film lacrymal, le mouvement des cellules érythrocytaires ainsi que les flux sanguins érythrocytaires et lymphatiques.

CORRECTION DES MOUVEMENTS AXIAUX DE L'ŒIL EN TEMPS RÉEL

Le rythme cardiaque et la respiration sont connus pour être responsables d'un mouvement naturel de l'œil d'avant en arrière. Cette composante axiale est non négligeable de par son amplitude ($\sim 100 \mu\text{m}$ sur plusieurs secondes) et sa vitesse (vitesse médiane de $\sim 1 \text{ mm/seconde}$). Elle ajoute ainsi un défi important au positionnement de la porte de cohérence à la profondeur d'intérêt [2]. Pour résoudre ce problème, l'OCT plein champ a été combiné à un OCT spectral conventionnel à balayage ponctuel, qui produit des images en coupe, permettant de suivre la position axiale de l'œil. En connaissant la position de l'œil, on peut directement déduire le décalage de chemin optique dans l'interféromètre qui doit être corrigé. La figure 1 montre le schéma d'un système OCT plein champ combiné à l'OCT spectral pour l'imagerie de la cornée. Pour l'imagerie rétinienne, la seule différence est que l'objectif de microscope du bras échantillon est remplacé par les optiques de l'œil elles-mêmes.

Grâce à cette combinaison d'instruments, les premières images de la rétine par OCT plein champ ont été obtenues en 2018 [3] et ont rapidement été améliorées de manière significative avec la mise en place d'une boucle de correction du chemin optique en temps réel à l'aide d'une platine de translation motorisée [4]. Pour l'imagerie de la

cornée, une solution similaire a été implémentée mais a nécessité une compensation supplémentaire de la focalisation. En effet, dans ce cas, la présence de l'interface air-échantillon introduit un décalage entre la porte de cohérence et le plan focal.

Le système combiné OCT plein champ/OCT spectral a ouvert la voie à une série de nouvelles avancées et de publications récentes du groupe, portant notamment sur le suivi et la correction des mouvements axiaux de l'œil et sur l'amélioration du signal, par exemple : 1) la prédiction des mouvements par filtre de Kalman et réseau de neurones pour diminuer l'erreur temporelle de la boucle de correction, 2) l'adaptation de la fréquence de modulation de la phase optique à la fréquence naturelle des mouvements axiaux de l'œil (par exemple, liée au rythme cardiaque), 3) l'entraînement d'un réseau Unet d'apprentissage profond pour reconstruire l'image tomographique à partir d'une seule image

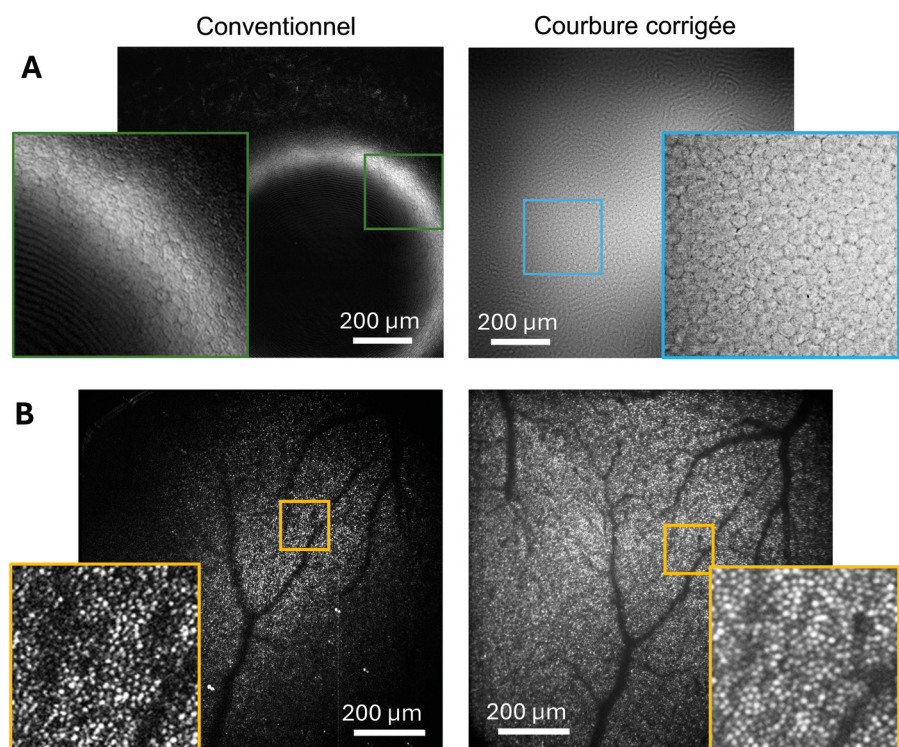
[5], 4) l'utilisation d'une méthode d'apprentissage profond Noise2Noise pour le débruitage des images.

MISE EN FORME DE LA PORTE DE COHÉRENCE POUR UN CHAMP DE VISION ÉTENDU

L'OCT plein champ acquiert des coupes tomographiques avec un champ de vision relativement large, potentiellement 25 fois supérieur à l'état de l'art en matière d'imagerie oculaire à résolution cellulaire et à très haute vitesse. Cependant, la cornée et la rétine étant courbées, le champ de vision utile est réduit car les photons rétrodiffusés par une couche d'intérêt peuvent présenter une différence de chemin optique trop importante par rapport aux photons réfléchis par le miroir de référence, qui est lui plat.

Pour surmonter ce problème, une solution simple a consisté à remplacer le miroir de référence plat par un miroir courbe, dont la

Figure 2. Comparaison de l'OCT plein champ conventionnel et de l'OCT plein champ avec correction de la courbure pour la cornée (A) et la rétine (B). Les images de (A) sont adaptées de [5] avec l'autorisation de l'Optical Society of America.



courbure est similaire à celle de la cornée, ce qui a permis d'obtenir un champ de vision de $1\text{ mm} \times 1\text{ mm}$ [6] (Figure 2 A). Le nouveau dispositif ressemble à un interféromètre de Twyman-Green classique, mais avec une capacité de sectionnement optique supplémentaire. Dans la rétine, le champ de vision utile a été étendu à $1,5\text{ mm} \times 1,5\text{ mm}$ (Figure 2 B). Cependant, dans ce cas, le miroir de référence est resté plat. En effet, la courbure de la rétine étant plus faible que celle de la cornée, il a suffi d'insérer une simple lamelle de verre dans le bras échantillon pour la compenser et ainsi faire correspondre les longueurs de chemin optique pour tout point du champ de vision.

Grâce à cette extension du champ de vision, il a été possible d'accéder à plus de détails dans une seule image, comme les cellules endothéliales/sous-basales de la cornée ou les nerfs/photorécepteurs de la rétine. Un grand champ de vision est un précieux atout clinique, car cela améliore la précision et réduit le temps nécessaire pour quantifier des biomarqueurs tels que la densité cellulaire.

MAÎTRISE DES ABERRATIONS OCULAIRES

Une des propriétés les plus remarquables de l'OCT plein champ est la grande robustesse de sa résolution latérale en présence d'aberrations symétriques, telles que le défocus et l'astigmatisme, deux aberrations oculaires dominantes (Figure 3) problématiques pour l'imagerie de la rétine [7,8]. Plus précisément, ce phénomène intéressant est dû à l'utilisation d'une lumière spatialement incohérente qui, en interférométrie, agit comme un trou confocal virtuel [8].

Il convient de noter que si les aberrations symétriques de bas ordre n'affectent que très peu la résolution, elles provoquent néanmoins une baisse du rapport signal sur bruit (RSB), puisque les photons aberrés n'interfèrent pas. Un faible RSB affecte considérablement la robustesse de l'imagerie par l'OCT plein champ, car il est alors nécessaire de moyenner un nombre trop important d'images pour retrouver un contraste satisfaisant. Par conséquent, les couches rétinienne dont la réflectivité est plus faible que celle des photorécepteurs

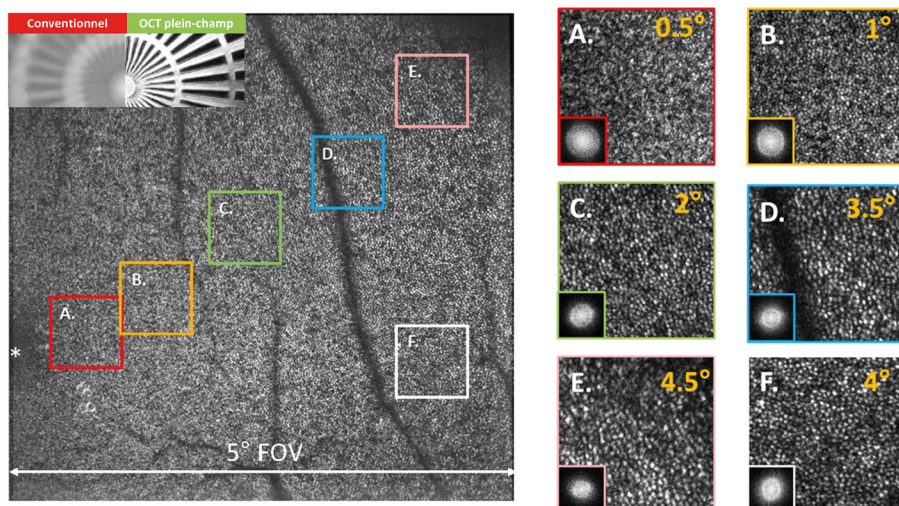
deviennent difficiles à visualiser. Au fil des ans, une série d'approches a permis d'améliorer progressivement le RSB. Initialement, il était demandé au sujet de porter ses propres lunettes de prescription. Ensuite, une méthode appelée « lunettes adaptatives » a été mise au point. Il s'agissait de placer une lentille adaptative juste devant l'œil pour une correction plus précise [9]. Pour piloter la lentille, une approche sensorless a été adoptée, en maximisant la luminosité d'une couche rétinienne d'intérêt donnée par l'image en coupe générée par l'OCT spectral. Enfin, depuis peu, c'est une approche « Woofer-Tweeter » qui est utilisée. Deux composants optiques complémentaires visent à corriger les aberrations : une lentille liquide à focalisation variable pour le défocus, avec une grande amplitude (correcteur woofer), et une lentille adaptative pour les aberrations de plus faible amplitude et d'ordre élevé, telles que l'astigmatisme et la coma.

Ces innovations en matière de correction des aberrations oculaires ont permis d'obtenir une imagerie rétinienne à haute résolution (résolution xyz de $2\text{ }\mu\text{m} \times 2\text{ }\mu\text{m} \times 8\text{ }\mu\text{m}$) sur un champ de vision de $5^\circ \times 5^\circ$ et sans anisoplanétisme apparent (Figure 3). L'appareil peut résoudre les cônes jusqu'à $0,5^\circ$ du centre de la fovéa, où ils sont très densément regroupés. La couche de fibres nerveuses (NFL) a pu être imagée à différentes excentricités/profondeurs, mettant en évidence des structures rétinienne telles que des fibres de collagène, des Gunn's dots, des faisceaux de fibres nerveuses, des capillaires, des globules rouges ou encore des parois de vaisseaux.

PREMIÈRES ÉTUDES CLINIQUES ET PERSPECTIVES

À ce jour, la méthode OCT plein champ fait l'objet d'études cliniques à l'Hôpital National des Quinze-Vingts à Paris. Dans le domaine de la cornée, les résultats les plus notables ont été observés chez des patients atteints de kératocône et de dystrophie endothéliale de Fuchs. Chez un patient

Figure 3. L'encadré en haut à gauche met en évidence la robustesse de la résolution latérale de l'OCT plein champ à la défocalisation par rapport à un système d'imagerie conventionnel. Image OCT plein champ de la couche correspondant à la jonction entre les segments interne et externe (IS/OS) des photorécepteurs de la rétine. L'astérisque marque le centre de la fovéa. Les zones agrandies de l'image mettent en évidence la haute résolution obtenue, et ce uniformément sur tout le champ de vision (pas d'anisoplanétisme visible)



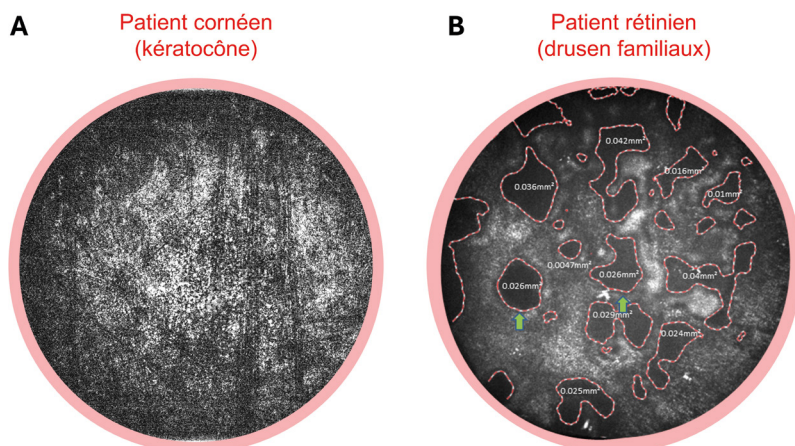


Figure 4. Images cliniques typiques de l'OCT plein champ acquises sur des patients. (A) Image acquise sur un patient avec un kératocône cornéen visible sous forme de bandes sombres (appelées stries). (B) Image acquise sur un patient avec drusen familiaux, zones qui se caractérisent par une absence de signal au niveau de l'épithélium pigmentaire, en raison de sa dégénérescence. Grâce à la haute résolution 3D de l'OCT plein champ, il est possible de quantifier l'étendue de ces drusen et de suivre leur évolution dans le temps avec précision.

atteint de kératocône, l'OCT plein champ a révélé des stries stromales étendues associées à une déformation de la cornée (Figure 4 A). Chez un patient atteint de la dystrophie endothéliale de Fuchs, les fameuses « gouttes » cornéennes ont été observées. L'OCT plein champ permet de visualiser toutes les couches de la cornée avec une résolution cellulaire, à l'instar du microscope confocal, très utilisé en clinique. En revanche, à la différence de ce dernier, l'OCT plein champ ne nécessite aucun contact avec l'œil, et offre par ailleurs une zone de visualisation dix fois plus grande. De nombreux patients atteints de maladies rétinien ont également été imagés. Chez un patient présentant des drusen familiaux par exemple, il a été possible de les localiser en 3D et de quantifier avec une précision remarquable ces aires de dégénérescence de l'épithélium pigmentaire rétinien (Figure 4 B). La haute résolution 3D de l'OCT plein champ semble donc très prometteuse pour assister les médecins ophtalmologues, par exemple dans le diagnostic précoce de maladies ou encore dans le suivi de leur évolution en réponse à des traitements.

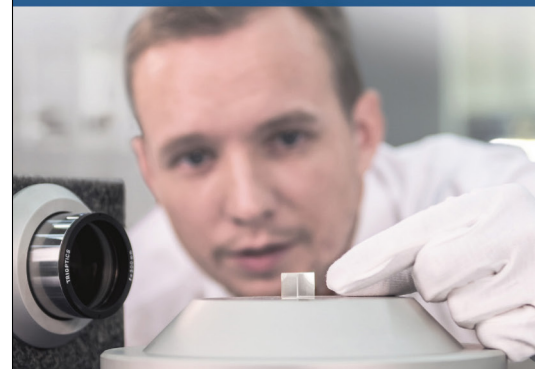
Les essais cliniques en cours sont susceptibles d'élargir la gamme des maladies identifiables par l'OCT plein champ.

La précision des biomarqueurs quantitatifs devrait augmenter avec le nombre d'individus sains et de patients examinés. Comme dans d'autres domaines de l'imagerie, on s'attend également à ce que les progrès rapides des algorithmes d'apprentissage profond contribuent considérablement à améliorer à la fois le traitement et l'analyse des images. ●

RÉFÉRENCES

- [1] V. Mazlin *et al.*, Biomed. Opt. Express **9**, 557 (2018)
- [2] Y. Cai *et al.*, Front. Med. **9**, 868217 (2022)
- [3] P. Xiao *et al.*, Optica **5**, 409 (2018)
- [4] P. Mecê *et al.*, Biomed. Opt. Express **11**, 492 (2020)
- [5] V. Mazlin, Biomed. Opt. Express **15**, 222 (2024)
- [6] V. Mazlin *et al.*, Optica **7**, 872 (2020).
- [7] P. Xiao, *et al.*, Opt. Lett. **41**, 3920 (2016)
- [8] V. Barolle *et al.*, Opt. Express **29**, 22044 (2021)
- [9] J. Scholler *et al.*, Opt. Lett. **45**, 5901 (2020)

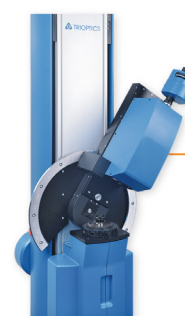
Instrumentation de test optique



Mesure de la plupart des paramètres optiques

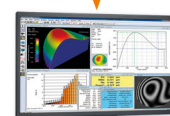
FTM, EFL, BFL, centrage, alignement front d'onde

Applications en R&D et production



Banc de FTM
UV, VIS, IR

Interféromètre
"μPhase"



Station de
centrage optique



TRIOPTICS France

76 rue d'Alsace
69100 Villeurbanne
Tel. +33 (0)4 72 44 02 03
www.trioptics.fr