

可见光光学相干层析成像技术发展综述(特邀)

宋维业^{1,2*}, 姚政开^{1,2}, 吴付旺^{1,2}, 卢凯旋^{1,2}, 姜显春^{1,2}¹山东大学机械工程学院, 山东 济南 250061;²山东大学高效洁净机械制造教育部重点实验室, 山东 济南 250061

摘要 光学相干层析成像技术是一种高分辨率、高信噪比的非接触式三维成像技术,在视网膜成像等领域具有重要的应用价值与意义。可见光光学相干层析成像技术采用波长更短的光源,相比于采用传统的近红外波段光源具有独特的成像优势——可以达到亚微米级的轴向分辨率,具有更高的视网膜层间对比度,可以检测视网膜血管的血氧饱和度——对多种疾病的早期诊断、治疗和深入研究具有重要意义。本文简述了光学相干层析成像技术的发展现状,并对可见光光学相干层析成像技术在系统结构优化、动物成像应用和临床应用方面的代表性工作进行了综述。

关键词 光学相干层析成像; 可见光; 成像系统; 视网膜成像; 血氧饱和度检测

中图分类号 TN247

文献标志码 A

DOI: 10.3788/CJL240634

1 引言

1.1 光学相干层析成像技术概述

光学相干层析成像(OCT)技术于1991年被提出^[1],其基于低相干光的干涉原理,具有高分辨率、高信噪比以及非侵入、无损伤、可三维成像等特点,能够实现生物组织内部微观结构的层析成像,在生物、医学、材料等领域具有重要的应用价值,是现代光学成像领域的研究热点之一。

自从Swanson等^[2]于1993年首次演示了人眼视网膜的活体OCT技术以来,研究人员一直致力于将该技术发展成为生物成像和医疗诊断的强有力工具,从而使得OCT在临床中得到了广泛应用。OCT应用领域涉及眼科^[3-6]、皮肤科^[7]、心血管科^[7]、肠胃科^[8]、口腔科^[9-10]、肿瘤科^[11]、胸外科^[12]和神经科^[13]等。在过去的30年中,OCT在视网膜成像领域的发展最为迅猛。OCT作为一种相干层析成像的新技术,使用过程中无须注射造影剂就可以直接获取视网膜组织的横截面图像,并且可以在短时间内生成微米级分辨率的三维图像^[14-17]。OCT凭借其独特的优势在众多疾病的诊断和监测中发挥着重要作用^[18-19],已成为黄斑变性等多种视网膜疾病诊断的临床金标准。

尽管OCT主要应用于生物医学成像领域,但研究人员也致力于将其推广应用至其他领域^[20]。例如:在增材制造领域,Guan等^[21]的研究表明OCT不仅能检测样品的表面缺陷和内部精细特征,还能区分加工过程中的未烧结粉末和烧结粉末;在微电子领域,Iff等^[22]将OCT用于印刷电路板中保护涂层厚度的评估

以及半导体制造中3D集成开发的硅通孔尺寸的计量。

频域OCT(FD-OCT)是目前主流的OCT技术,它通过采集光谱的干涉信号获取样品信息,再通过图像重建来生成样品图像。根据所使用的光源,FD-OCT可分为基于宽谱光源的谱域OCT(SD-OCT)和基于扫频激光光源的扫频OCT(SS-OCT)。SD-OCT可以实现更高轴向分辨率的成像,观察到更多的细节,并且相位稳定性较强^[23],在血流动力学等指标的检测上更具优势。相比之下,SS-OCT^[23-24]具有更好的信噪比滚降性能和更大的成像深度,并且可以达到MHz的采样速度。

近年来,研究人员致力于提高OCT的成像分辨率,增大其成像视野,提高其功能成像能力,并拓展其应用领域;因此,OCT技术不断取得新的突破,衍生出了众多技术分支。表1列举了OCT的多种技术分支,并对各技术分支的先进性进行了介绍。除此之外,还有一些OCT分支未能详尽列出,例如inverse spectroscopic OCT^[25]、line-field OCT^[26],这些技术分支在OCT发展过程中同样扮演着举足轻重的角色。无论是表中所列技术,还是那些尚未提及的分支,它们都在推动着OCT技术不断进步,丰富着OCT技术在生物成像、医学诊断等领域的应用。每一项技术都有其独特的价值和意义,它们共同构成了OCT技术的完整体系。

分辨率是评价OCT系统性能的重要指标,分辨率的高低直接影响着OCT系统的成像质量,进而决定了医生对疾病诊断、病情评估的准确性,所以实现更高的

收稿日期: 2024-02-28; 修回日期: 2024-04-09; 录用日期: 2024-04-15; 网络首发日期: 2024-04-23

通信作者: *songweiye@sdu.edu.cn

表 1 OCT 技术分支介绍
Table 1 Introduction to the branches of OCT technology

Summary of main features	OCT technical branch	Summary of technology
High resolution	Visible-light OCT	Imaging with light sources in the visible band allows for higher axial resolution and the ability to observe details that cannot be observed in infrared light ^[27]
	Adaptive optics OCT	It can measure and correct eye aberrations, improve lateral resolution, reduce speckle size and increase sensitivity to weak reflections ^[28]
	Wide spectrum OCT	It has a wide bandwidth and can recognize retinal structures at cellular and subcellular levels ^[29]
Large imaging fields	Full-field and dynamic full-field OCT	Acquiring images with charge coupled device cameras in 2D <i>en-face</i> orientation at different depths for high resolution images at the cellular level ^[30-32]
	Wide-field OCT	Three-dimensional retinal images can be obtained over a field-of-view of more than 70° ^[33]
Functional imaging	Polarization sensitive OCT	It can assess birefringence and thickness independently ^[14,34] and provide more molecular contrast than OCT ^[35]
	OCT angiography	It is sensitive to motion contrast, enabling 3D visualization of blood flowing within vascular networks without the administration of intravenous contrast agents ^[36]
Wide range of applicability	Hand-held OCT	Making OCT systems smaller, lighter, and capable of scanning targets in a hand-held manner ^[37]
	Low-cost OCT	This significantly reduces the price of OCT and more people can benefit from this advanced medical technology ^[38]

分辨率一直是 OCT 技术发展的重要方向之一。在众多提高 OCT 分辨率的技术手段中, wide spectrum OCT 需要更宽的谱宽, 这为系统的色散补偿带来了更大的技术挑战; adaptive optics OCT 利用自适应光学技术提高了系统的横向分辨率, 但纵向分辨率仍然限制于 OCT 系统本身。可见光 OCT (Vis-OCT) 采用中心波长更短的可见光波段光源进行成像, 有着更高的横向和轴向分辨率^[39], 能够更精细地反映生物组织的微观结构。此外, Vis-OCT 采集到的生物组织图像有着更高的对比度, 能够显示出更多的生物组织信息。高分辨率和高图像对比度的优势使得 Vis-OCT 在眼科、皮肤科等领域具有广阔的应用前景, 可为医生提供更详细、准确的图像信息。鉴于此, 本文对 Vis-OCT 进行了综述, 重点介绍其技术特点、应用现状, 并探讨其未来的发展趋势。

1.2 Vis-OCT 技术概述

近红外 (NIR) 光具有较强的穿透能力^[40], 并且 NIR 光源技术相对成熟, 具有价格优势, 因此, 目前临床上使用的 OCT 设备普遍采用 NIR 光源。但是, 在过去的十几年中, 随着超连续谱光源技术的出现和迅速发展, Vis-OCT 受到了越来越多的关注^[41-43]。

Povazay 等^[44]于 2002 年首次提出了 Vis-OCT 技术, 并使用 Vis-OCT 呈现了硝化纤维素膜的图像。经过 20 余年的发展, Vis-OCT 已经被成功应用于离体组织成像、动物体内成像以及人眼视网膜成像。Ghassabi 等^[45]、Wang 等^[46]、Song 等^[17]等使用 Vis-OCT

对健康志愿者和视网膜疾病患者进行了视网膜图像采集, 观测到了视网膜疾病患者视网膜的结构性病变, 验证了 Vis-OCT 走向临床应用的可行性。

与 NIR-OCT 相比, Vis-OCT 的优势在于其轴向和横向分辨率分别与光源的中心波长呈二次和线性相关的关系。因此, 在光谱带宽相同的条件下, 使用更短中心波长光源的 Vis-OCT 可以实现更高的轴向和横向分辨率成像^[39], 观测到更细致的结构信息, 从而可以获取分层更清晰的视网膜图像^[47]。Vis-OCT 能够利用可见光光谱范围内独特的组织散射和吸收对比特性。在可见光光谱范围内, 氧合血红蛋白和脱氧血红蛋白呈现出多个等吸收点^[48], 因此, Vis-OCT 能够通过解析两种血红蛋白光谱信号的强度测量血氧饱和度 (sO₂)^[49]。sO₂ 和血液流速可以用于评估视网膜氧代谢的能力, 进而研究视网膜疾病的发展状况^[50]。此外, 由于生物组织对可见光的散射系数较高, Vis-OCT 对组织的散射和吸收特性表现出了更高的敏感性, 能够获取到对比度更高的视网膜截面图像, 这对于视网膜疾病的诊断具有重要意义。

本文将着重对 Vis-OCT 的发展历程和最新研究进展进行综述, 包括系统结构优化、动物成像研究、临床应用等。

2 Vis-OCT 系统的结构-功能成像研究

2.1 系统结构优化

为了更好地满足临床需求, 科研人员一直致力于

优化 Vis-OCT 系统的设计。Povazay 等^[44]于 2002 年首次提出了 Vis-OCT 技术,将光子晶体光纤与低于 15 fs 的钛蓝宝石激光器结合,实现了约 0.9 μm (空气中)轴向分辨率成像,证明了 Vis-OCT 具有在生物组织中实现亚微米级轴向分辨率成像的潜力。2008 年, Gangnus 等^[51]使用了 450~600 nm 光谱范围的超连续谱光源和自制光谱仪搭建了一套 Vis-OCT 系统,实现了 1 kHz 的线扫描速度,证明了获取 20 μm 厚血液 sO_2 数据的可行性。2013 年, Yi 等^[52]搭建了一套中心波长为 585 nm、半峰全宽为 85 nm 的 Vis-OCT 系统,其轴向分辨率为 1.7 μm ,线扫描速率为 24 kHz。2015 年, Yi 等^[53]在 Vis-OCT 的搭建中使用空间干涉测量装置来最大程度地降低色散问题的影响。同年, Yi 等^[54]将激光扫描检眼镜(SLO)与 Vis-OCT 结合搭建了一套系统,其示意图如图 1 所示。SLO 既能单独工作,也能作为 Vis-OCT 的辅助对准装置。该 Vis-OCT 系统的扫描速率为 25 kHz,信噪比滚降为 12 dB/mm,在空气中的轴向分辨率为 0.97 μm 。

2016 年, Chen 等^[48]将 Vis-OCT 与 NIR-OCT 结合,通过共用样品臂以及在 NIR-OCT 系统中补偿色差,实现了两套系统在视网膜上的同时聚焦和图像采集。同年, Nafar 等^[55]也搭建了一套相似的双波段 OCT 系统。值得注意的是: Nafar 等搭建的 Vis-OCT

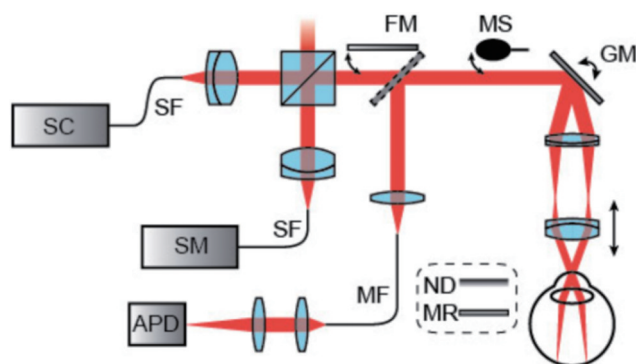


图1 SLO引导的Vis-OCT系统示意图^[54]

Fig. 1 Schematic diagram of the SLO guided Vis-OCT system^[54]

系统使用了光纤耦合器,整个系统更加简洁和稳定;而 Chen 等则通过空间光耦合的方式来避免光纤耦合器引起的光学色散,从而发挥系统的最佳性能。2018 年, Song 等^[56]研制了一种全光纤 VN-OCT 系统,其示意图如图 2 所示。该系统使用定制的波分复用器和光纤耦合器,可以在同一单模光纤中实现可见光和近红外光的高效传输,系统更加简洁、稳定和易于调试。2019 年, Shu 等^[57]设计了一台便携式 Vis-OCT。该系统使用了自制光谱仪、可调焦样品臂、瞳孔监测相机等装置,操作简单,提高了系统信噪比和患者舒适度。

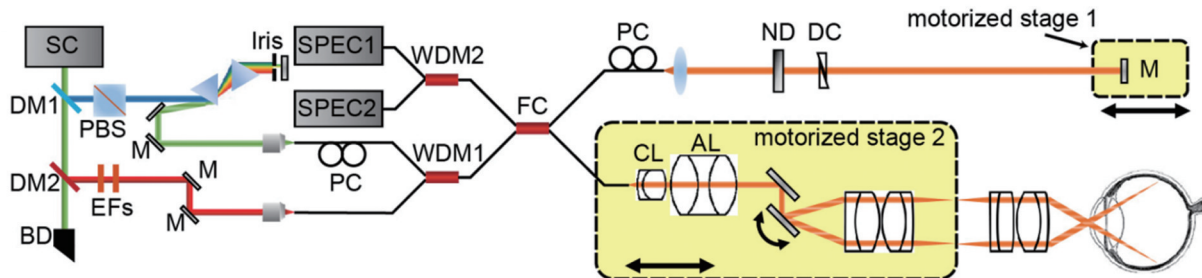


图2 VN-OCT系统示意图^[56]

Fig. 2 Schematic of the VN-OCT system^[56]

在临床使用中,由于较大的视网膜曲率和系统存在信噪比滚降,Vis-OCT 在采集视网膜图像时视场受限^[56]。2021 年, Song 等^[58]首次在 Vis-OCT 中使用线性 K 域光谱仪,在光栅和聚焦透镜中间设置了一个棱镜,从而在光谱仪上实现了 K 域线性化光谱信号的检测,消除了图像重建过程中插值重采样带来的数值误差,减少了程序运算量,提高了图像重建速度和系统信噪比。

迄今为止,大多数 Vis-OCT 都使用超连续谱光源作为系统光源,但是,超连续谱光源具有较高的相对强度噪声,这会降低 Vis-OCT 的信噪比,导致组织成像结果中的一部分细节被噪声掩盖。许多光学系统通常使用平衡检测法来提高系统的信噪比^[59],并且平衡检测法已在 SS-OCT 中得到了广泛应用^[18,60]。在 SD-OCT 领域, Kuo 等^[61]于 2013 年首次使用平衡检测法将

40 kHz 扫描速率下的系统信噪比提高了 5 dB 以上。2022 年, Rubinoff 等^[62]开发了一种平衡检测 Vis-OCT (BD-Vis-OCT),它利用两个光谱仪信号相对强度噪声的相关性,对两个光谱仪进行了亚像素精度级别的校准,使用两个经过校准的光谱仪来消除相对强度噪声,极大地提高了平衡检测的效果,同时显著降低了 OCT 的本底噪声。此外, Rubinoff 等基于改进的马赫-曾德尔干涉仪对参考臂的结构进行改进,最大程度地减少了参考臂中光信号的损失。在高的相对强度噪声条件下, Rubinoff 等使用 BD-Vis-OCT 在 125 kHz 的扫描速率下对 5 名健康志愿者的视网膜进行成像。结果表明,图像的 PSNFR (peak-signal-to-noise-floor-ratio) 和 PSNR (peak-signal-noise-ratio) 分别提高了 15.3 dB 和 15.2 dB,并且观测到了被本底噪声掩盖的结构特征。

2021 年,基于眼底相机的双波长设备已商业化,并被用于视网膜 sO_2 检测,但是仍然存在着血管直径测量不准确、血细胞散射和色素吸收等问题^[63]。Wang 等^[46]设计了一种融合了可见光和近红外光谱波段的双通道系统,该系统能够同时进行视网膜成像和视网膜 sO_2 检测。NIR-OCT 和 Vis-OCT 的结合有助于进行视网膜层分割,获得高血管和非血管组织对比度图像以及高视网膜层间对比度图像。同时,NIR-OCT 的引入使得系统初始对准视网膜时避免了过多的可见光暴

露,提升了患者的舒适度。

2024 年,Wang 等^[64]进一步升级了双通道 OCT 系统,如图 3 所示。该系统具有极高的成像能力:采用 K 域线性 Vis-OCT 光谱仪,覆盖 500~640 nm 的光谱带宽,实现了视网膜中 1.8 mm 处 7.2 dB 的信噪比滚降性能;通过调制参考光程,总成像深度范围加倍,并校正了宽视场成像的视网膜曲率;利用两个光谱仪进行去噪处理,消除了超连续谱光源产生的大部分噪声,显著提高了系统的信噪比。

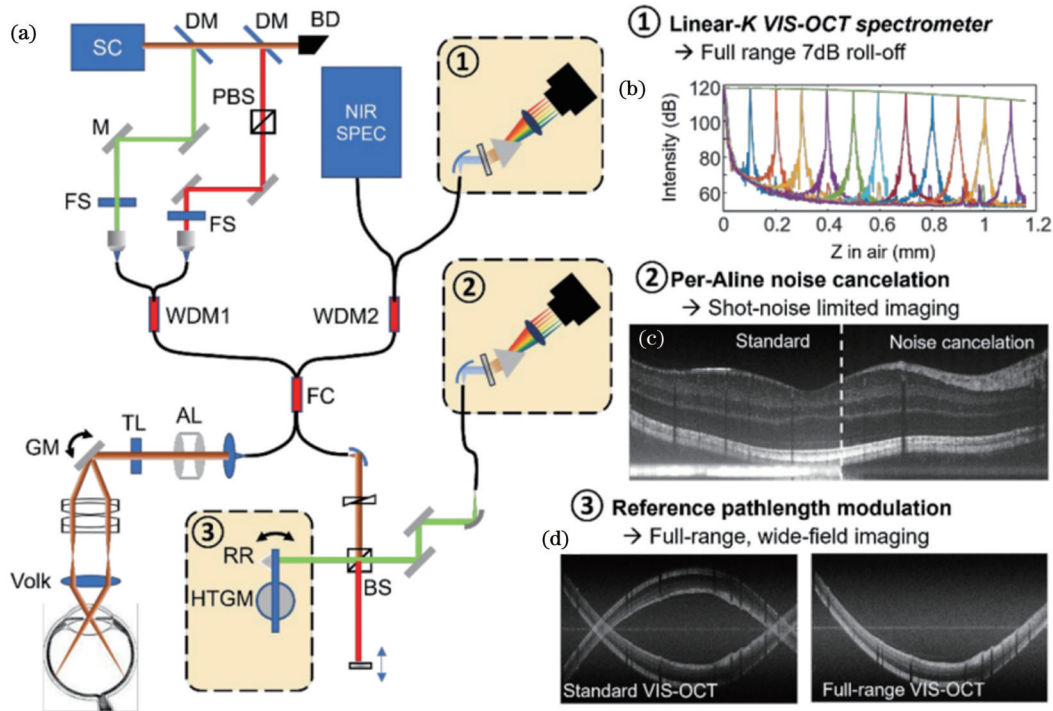


图3 双通道 Vis-OCT 概述^[64]。(a)系统配置示意图。实现全范围、宽视场成像的三个关键技术是:① K 域线性 Vis-OCT 光谱仪;② 双光谱仪噪声消除;③ 参考光程调制。三种关键技术的成像性能总结:(b)在整个成像范围内实现 7.2 dB 信噪比滚降;(c)散粒噪声极限性能;(d)成像深度范围加倍

Fig. 3 Overview of dual-channel Vis-OCT^[64]. (a) Schematic of the system configuration. Three key enabling designs for full-range and wide-field imaging are: ① linear-in-K Vis-OCT spectrometer; ② per-A-line noise cancellation by a second spectrometer; ③ reference pathlength modulation. Summary of the imaging performance by three optical designs: (b) achieving 7.2 dB signal-to-noise ratio roll-off over the entire imaging range; (c) short-noise limited performance; (d) doubling the imaging depth range

综上所述,随着 Vis-OCT 技术的不断发展和系统结构的持续优化,光源的能量利用效率、系统性能和稳定性都得到了显著提高。许多创新技术的应用使得 Vis-OCT 在视网膜成像和 sO_2 检测方面取得了显著进步,为发现和治疗早期视网膜疾病提供了更有效的手段和方法,同时也推动了 Vis-OCT 技术在医疗领域的应用和发展。

2.2 功能成像研究

视网膜神经元的代谢高度活跃,几乎完全依赖于即时的氧气输送。氧气供应异常会导致视网膜功能障碍^[65],因此,视网膜 sO_2 是反映眼部生理状态的重要指标。糖尿病、青光眼等许多疾病会导致视网膜 sO_2 异常^[66],而且,越来越多的研究表明视网膜血液流动以及

sO_2 变化先于眼部疾病的结构改变^[67-69];因此,眼底功能成像研究对于疾病的早期预防和病理研究有着重要意义。

视网膜血液循环通常主要通过血液流速和 sO_2 变化来描述,而血液流速和 sO_2 变化的获取通常需要借助 OCT 血管造影 (OCTA)、多普勒 OCT (DOCT) 和 Vis-OCT。

OCTA 是一种利用血细胞的运动来生成高对比度血管图像的成像技术^[70],该技术通过在视网膜同一位置采集两次或者多次 B-scan 图像的方式提取血细胞的运动信息,定位视网膜血管,显著提高了对微血管的成像能力,为形态学诊断提供了重要支持^[71]。

DOCT 是一种利用光学干涉原理测量血液流速

和血管直径的无创成像技术,可以对活体动物的血管进行动态观察和定量分析^[48],为许多视网膜疾病的研究提供了有力工具。2003年,White等^[72]首次使用DOCT在几秒钟时间内获取了健康志愿者的视网膜血流图像。这些图像展示了视网膜的结构和血管边界,并展示了血流的双向性和脉动性。2007年,Wang等^[73]首次利用DOCT实现了视网膜总血流量的测量。

通常情况下,OCTA可与DOCT组合使用。OCTA用来定位血管位置、测量血管直径和多普勒角度,DOCT则借助血管直径和多普勒角度测量血流量。2018年,Song等^[74]使用OCTA与DOCT精确测量了小鼠的血液流速和股动脉直径,利用高精度三维成像和改进的扫描协议将血管直径、血流量、血液流速和血管壁剪应力的测量精度分别提高了0.91%、11.0%、10.7%和14.0%。

在利用Vis-OCT实现 sO_2 检测之前,研究人员通常使用眼底相机检测视网膜 sO_2 ,但是眼底相机测量的准确性会随着血管直径和黑色素浓度的增加而降低,而且缺少深度信息^[75],无法获取深层血管的 sO_2 。有研究团队尝试使用NIR-OCT进行 sO_2 检测,结果显示,NIR-OCT虽然能够对血管进行精确的3D定位,但是由于血液对近红外光的吸收较弱,NIR-OCT图像经常被组织散射信号掩盖,无法提供足够的成像对比度^[48,52];而且,氧合血红蛋白和脱氧血红蛋白的散射系数在750~840 nm光谱范围内为平行关系^[76]。这些都导致NIR-OCT在 sO_2 的定量测量上并不理想^[76-77]。

相比之下,在Vis-OCT的光谱范围内有两种血红蛋白的多个等吸收点^[78],并且血液的光谱吸收强度在可见光光谱范围内比在近红外光谱范围内要高出10倍以上^[59]。这些特性使得Vis-OCT具有定量测量 sO_2 的能力。

为了深入对比Vis-OCT和NIR-OCT对视网膜血液循环过程进行功能成像的能力,Chen等^[48]搭建了双波段OCT系统并利用该系统进行了Vis-OCT和NIR-OCT对比实验。实验结果如图4所示,图4(a)和图4(b)分别展示了从Vis-OCT和NIR-OCT图像中获取的视网膜主要动脉和静脉的光谱强度。在可见光光谱范围内,动脉与静脉的光谱强度信号有两个明显的交叉点,可以提高测量结果的准确性;在NIR光谱范围内,理论上动脉与静脉的信号强度存在一个等吸收点^[79],但实验测量得到的光谱分布上二者表现为平行关系,这可能是因为NIR波长范围内血液的散射系数比吸收系数大100倍以上并且两者的区分对比度较差^[79]。此外,在测量血流量方面,两者均能够准确测量视网膜血液循环过程中的绝对血流量。

到2023年,基于Vis-OCT的 sO_2 检测技术的成熟度已大幅度提高,不仅可以保证测量的安全性,而且测量准确性也达到了较高水平。Rubinoff等^[80]提出了一

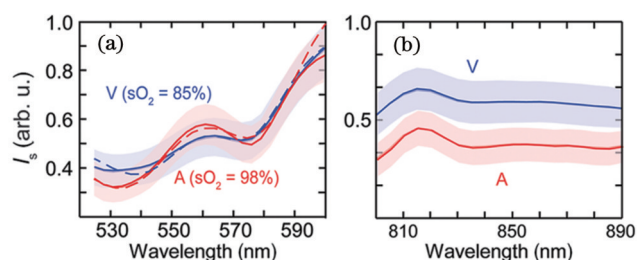


图4 从所有已识别的动脉和静脉中提取的平均光谱强度^[48]。(a)在可见光波段获得的光谱强度信息;(b)在红外波段获得的光谱强度信息

Fig. 4 Averaged spectral intensity extracted from all identified arteries and veins^[48]. (a) Spectral intensity from the visible wavelength band; (b) spectral intensity from the infrared band

种自适应光谱Vis-OCT(ADS-Vis-OCT)技术,其可以自适应地去除噪声的影响,并能准确地测量视网膜中不同直径动脉和静脉的 sO_2 。他们对使用ADS-Vis-OCT获取的健康志愿者的视网膜信息进行了验证,以证明ADS-Vis-OCT测量的准确性和重复性。结果表明,ADS-Vis-OCT与血气分析仪、脉搏血氧仪的测量结果一致,重复测量的标准差小于2.5%。

总而言之,以Vis-OCT为核心,结合OCTA、DOCT等技术,可以对视网膜的氧代谢率进行无创评估,从而为视网膜病理研究提供线索,也为疾病的早期诊断和后期治疗提供了潜在的生物标志物^[65,81]。

3 Vis-OCT的动物成像研究

3.1 小鼠视网膜成像研究

根据Hammer等^[67]、Hardarson等^[68]、Liu等^[69]的研究,许多致盲性视网膜疾病在早期阶段会伴随有视网膜细胞的变性^[53],如糖尿病性视网膜病变^[81]、青光眼、黄斑变性和早产儿视网膜病变^[82]等。不同眼部疾病对视网膜结构的改变并不相同^[15],所以,利用具有高分辨率的Vis-OCT对视网膜进行三维成像可以实现多种视网膜疾病的诊断。以青光眼为例:青光眼是一种不可逆的视神经病变,其特征是视网膜神经节细胞(RGC)及其轴突死亡,导致特征性视神经萎缩和视网膜神经纤维层(RNFL)结构变化以及视野缺失^[83],基于此可以利用Vis-OCT检测RNFL的变薄情况进行青光眼疾病的诊断。

对小鼠视网膜成像的研究有助于用于人眼视网膜成像的Vis-OCT技术的优化与改进。同时,小鼠视网膜疾病模型研究对于人眼视网膜疾病研究有着重要意义,它可以帮助人们更深入地理解视网膜结构等病变与视网膜疾病的关系,从而为临床诊断、治疗提供更多的信息和参考。

Vis-OCT在成像视野、分辨率和扫描速度等方面不断取得新的突破,使人们能够更精确地量化视网膜病变的位置和体积^[18]。2011年,Vis-OCT首次成功应

用于小鼠视网膜活体成像^[84]。2013年,Yi等^[52]首次使用 Vis-OCT 实现了小鼠视网膜 sO_2 检测。此后,越来越多的研究小组开展了 Vis-OCT 的活体成像研究。

2015年,Yi等^[53]使用 Vis-OCT 非侵入性地测量了小鼠视网膜的血液流速和 sO_2 ,并计算出了视网膜的氧代谢率。这表明 Vis-OCT 有潜力揭示氧代谢变化在各种视网膜疾病发展过程中的基本作用。同年,Soetikno等^[82]使用小鼠构建 50/10 氧诱导视网膜病变模型,模拟早产儿视网膜病变症状,并将 Vis-OCT 和 DOCT 结合起来研究疾病发展过程中视网膜结构和功能的变化。这项研究首次量化了健康新生小鼠和视网膜病变小鼠的视网膜氧代谢率,探索了视网膜病变过程中不同时间点的小鼠视网膜氧代谢,为后续研究人体病变视网膜的氧代谢变化提供了参考依据。

2016年,Chen等^[48]使用 Vis-OCT 和 NIR-OCT 进行了小鼠视网膜成像测试对比。实验结果表明,可见光的信号强度在视网膜中沿深度方向迅速衰减,这使 Vis-OCT 几乎无法对视网膜色素上皮层(RPE)下方的视网膜结构进行成像,而视网膜在 NIR 光谱范围内的光学吸收和散射较小,从而使得 NIR-OCT 能够获取到更深处的组织信息。此外,Vis-OCT 采集的视网膜图像展现出了更高的轴向分辨率和层间对比度。由于 RNFL 的厚度和反射率与青光眼有关,因此,Vis-OCT 在青光眼的诊断中具有独特优势。

2019年,Rubinoff等^[85]通过调制 Vis-OCT 光束的扫描轨迹对散斑噪声进行平均,使用圆形扫描模式对小鼠眼睛模型和活体小鼠视网膜进行成像,得到了更平滑、更清晰的 Vis-OCT 图像,同时,这些图像保留了细微的结构细节,并且对样本运动具有鲁棒性。

2019年,Song等^[86]开发了一种基于全光纤的 VN-OCT,其能够测量对纳米级病理变化敏感的光谱,并且提出了一种基于可见光和近红外光信号强度比值的量化指标(VN比),用于视网膜疾病的早期诊断。他们使用 VN-OCT 对地塞米松诱导高眼压小鼠和对照组小鼠进行了为期7周的纵向观察,并通过免疫染色和细胞计数测量了 RGC 损失,验证了小鼠模型的有效性。实验结果表明,与对照组相比,地塞米松诱导高眼压小鼠 RNFL-RGC 层视网膜中的 VN 比逐渐降低,动脉和静脉 sO_2 差异逐渐增大,但是 RNFL 的厚度并没有显著变化。这意味着视网膜超微结构和血氧循环在 RNFL 厚度出现变化之前就发生了改变,表明 VN 比和动静脉 sO_2 差异可能是早期青光眼病变诊断的生物标志物;因此,VN-OCT 有望应用青光眼的早期临床诊断和监测。图5是通过 VN-OCT 获取的小鼠视网膜图像。

Pi等^[87]于2020年基于多体积配准和平均的方法利用 Vis-OCT 实现了细胞水平的小鼠视网膜成像,成功观察到了玻璃体纤维、神经纤维束、RGC、内核层(INL)细胞、视锥细胞以及内网层(IPL)中的三个亚

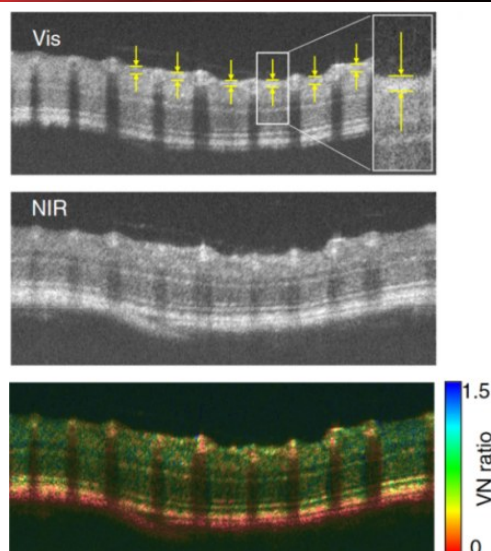


图5 RNFL厚度和VN比计算示意图^[86]

Fig. 5 Illustration of RNFL thickness and VN ratio calculation^[86]

层。该方法是一种细胞水平的视网膜观测方法,有助于发现细胞水平的生物标志物。

2021年,Beckmann等^[88]通过引入重采样的 B-scan 平均技术改善了视网膜层间对比度,并使得小鼠在出生后的第13天就能进行视网膜层厚度的测量。该研究发现,小鼠视网膜总厚度在出生后保持稳定,但各视网膜亚层的发育过程不同。同年,Grannonico等^[89]使用 Vis-OCTF (Vis-OCT Fibergraphy) 监测了 RGC 轴突束结构在损伤后的变化,观察并量化了小鼠 RGC 轴突束的宽度、密度和厚度。这表明 Vis-OCTF 实现了 RGC 轴突束的可视化和定量分析,可以用于评估 RGC 的健康状况和视网膜神经病变的进展。

2023年,Pi等^[90]对小鼠进行视神经切断后使用 Vis-OCT 纵向观察了小鼠视网膜的变化。观察发现,视网膜神经纤维束表现出了明显的变性,RNFL、RGC 复合体和整个视网膜厚度减小,视网膜动脉及静脉血管的 sO_2 显著降低,但血管密度未发生变化。该实验展示了 Vis-OCT 具有观测小鼠视网膜在视神经切断后所发生的变化能力,同时表明血管生理学改变并非单独表现在视网膜血管密度的解剖学特征上。

2023年,Chauhan等^[91]使用 Vis-OCT 研究了小鼠视网膜上视杆细胞变化与年龄的相关性。结果发现:随着年龄的增长,外核层(ONL)外部条纹出现压缩,外网层(OPL)子带变薄,突触减少。这项研究为理解视网膜老化过程中的光感受器损失和重塑提供了新的视角,表明 Vis-OCT 有助于提供活体眼睛衰老和视网膜变性的更完整图像。

总体来说,Vis-OCT 技术从最初的实验室研究阶段开始逐步发展,到如今,已经能够在活体小鼠上进行成熟的视网膜成像。通过小鼠视网膜成像,研究人员不仅能够有效验证 Vis-OCT 系统的性能优势,还能够

深入研究视网膜疾病的发病机制,以及探究不同疾病对视网膜结构和功能的影响。这一技术的发展为视网膜疾病的研究提供了有力支持,同时也为成像技术的优化和改进提供了重要依据。

3.2 其他部位成像研究

除了视网膜外,Vis-OCT 还可以用于对其他部位成像,如脉络膜、巩膜静脉窦^[92]、小鼠大脑和小鼠皮肤。

2016 年,Shah 等^[93]使用 Vis-OCTA 监测小鼠在激光诱导后脉络膜新生血管出现的最早时间,发现可在损伤后第 5 天检测到脉络膜新生血管,并准确测量了其面积。2019 年,Liu 等^[94]提出了一种定量指标,用于从小血管中测量 sO_2 ,同时利用 Vis-OCTA 对小鼠下肢和耳部微血管进行了 sO_2 测量,并量化了不同血管的氧合状态。

利用 Vis-OCT 能够精确地观测巩膜静脉窦的结构和变化。巩膜静脉窦是房水的主要流出通道。如果房水流出受阻,就会导致眼压升高,这是青光眼的主要特征^[95]。Vis-OCTA 对血流的敏感性很高,可以实现浅层角膜缘微血管系统和巩膜静脉窦下游静脉的可视化。

2020 年,Zhang 等^[92]使用 Vis-OCT 对小鼠体内整个巩膜静脉窦及其周围血管网络进行了成像。在实验过程中,Zhang 等使用电动旋转座实现了对眼睛的环形扫描,他们通过控制反射镜的角度使入射光与眼睛巩膜静脉窦的表面保持垂直,通过压力计将眼压调整到不同水平分别进行成像。实验结果表明:在眼压变化过程中,巩膜静脉窦的横截面积和体积随着眼压的升高而减小;当眼压升高 10 mmHg 时,巩膜静脉窦几乎完全闭合。

此外,Zhang 等将巩膜外静脉压设定在高压水平,使用 Vis-OCTA 进行了 8 次扫描成像,在每次扫描之前将电动旋转座旋转 45° ,使用基于形态重建的自动填充算法将得到的图像投影到球体上,形成的角膜缘视图如图 6 所示。将 8 次旋转得到的扫描图像拼

接在一起,便可实现对整个巩膜静脉窦和韧带微血管网络的三维重建和可视化。该方法避免了旋转小鼠造成的眼压和巩膜外静脉压不稳定,使得成像结果更加可靠。

大脑蕴含着丰富的神经元,进行着剧烈的氧化代谢活动;大脑中的氧化代谢会在创伤性脑损伤^[96]、阿尔茨海默病^[97]等疾病进展过程中发生变化;因此,对大脑氧化代谢水平进行测量在疾病诊断和病理研究等方面具有重要意义。

传统的大脑组织 sO_2 检测方法存在着一些缺陷,例如:Clark 型电极法^[98]是侵入性测量,会破坏细胞和干扰皮质生理机能;正电子发射断层扫描^[99]技术则比较复杂,需要频繁地进行动脉采血,并且分辨率较低。Vis-OCT 作为一种无损、非侵入的测量方法在大脑组织 sO_2 检测中逐渐得到了应用^[100],特别是 DOCT 方法的引入实现了定量的血液流量测量^[73,101]。

2015 年,结合多普勒 OCT 和 Vis-OCT,Chong 等^[102]提出了一种测量小鼠大脑皮质氧代谢的方法。该方法通过对小鼠脑皮质血流量、动静脉 sO_2 差和血细胞比容进行独立的测量来量化脑氧耗量。

2016 年,Chen 等^[103]通过局部血栓形成模拟了小鼠中风模型,使用 Vis-OCT 监测了中风小鼠大脑皮质的血液流速变化,并使用 Vis-OCTA 分析了大脑皮层中的 sO_2 。为了减小组织散射带来的误差,提高 sO_2 测量的精度,他们开发了一种基于双深度采样和归一化的方法:在 Vis-OCTA 图像上进行图像分割,将血管与组织分开,然后识别并定位 Vis-OCTA 图像中每个血管的位置,在两个不同的深度平面上测量血管造影强度,以便于进行后续的光谱分析。对比血栓形成前后的小鼠大脑皮质 sO_2 发现:血栓形成前,Vis-OCTA 测得的动脉中的 sO_2 随着血液的流动逐渐下降,但总体处于较高水平;血栓形成后,整个小鼠大脑皮层中的 sO_2 都处于较低水平。

皮肤、耳道和内窥检查可能是 Vis-OCT 潜在的临床应用场景。皮肤活检和组织病理学检查是皮肤癌检测的金标准^[104]。Vis-OCT 可以非侵入地采集表皮、真皮、毛囊、汗腺和血管等结构的图像,并显示出皮肤中病理结构的形态特征^[105]。目前,OCT 在耳蜗上的应用主要包括结构成像、血管造影和振动测量三个方面^[15]。高分辨率 OCT 可以区分哺乳动物耳蜗的微观结构^[106]。内窥成像可以实现活体组织的高分辨率可视化,在疾病的检测、诊断和监测上发挥着至关重要的作用^[107]。Vis-OCT 能够实现皮肤、耳道和体内组织的 3D 可视化,与 NIR-OCT 相比,其分辨率和对比度显著提高。

4 Vis-OCT 的临床应用

随着 Vis-OCT 的不断发展和小鼠成像技术的不断成熟^[70,73,81-82],许多研究小组相继从 Vis-OCT 的动物

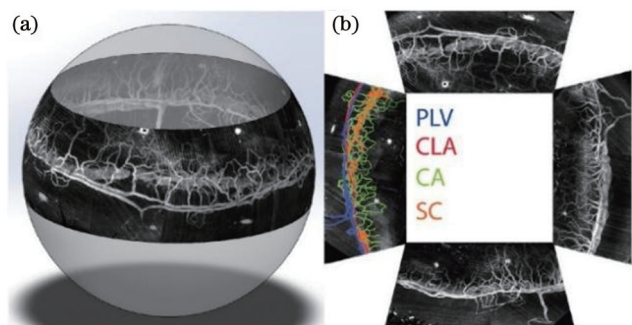


图 6 小鼠巩膜静脉窦成像^[92]。(a)角膜缘拼接图像的 3D 可视化;(b)整个巩膜静脉窦和角膜缘微血管网络的投影视图
Fig. 6 Imaging of mouse SC^[92]. (a) 3D visualization of montage limbal images; (b) projected view of the entire SC and limbal microvascular network

模型研究转移到人眼视网膜成像研究上,而且部分研究小组已经在医院进行了视网膜疾病患者的视网膜图像采集^[17]。

2015 年, Yi 等^[54]使用集成的 SLO 引导的 Vis-OCT 进行了人眼视网膜成像。这是首次公开的 Vis-OCT 人眼视网膜成像。图 7 展示了 SLO、Vis-OCT 和商业 NIR-OCT 在黄斑区和视神经盘周围的人眼视网膜成像结果。Vis-OCT 和 NIR-OCT 采集的 B-scan 图像显示出相似的视网膜结构;但与 NIR-OCT 相比, Vis-OCT 图像中视网膜内层的对比度稍弱,而视网膜外层具有更高的对比度。在 Vis-OCT 采集的图像中,由于 RPE 对可见光的吸收能力强,所以可见光很少透过 RPE 到达脉络膜。由于具有亚微米级分辨率, Vis-OCT 能够对视网膜各层进行更精细的区分,便于临床上更好地对疾病进行诊断。

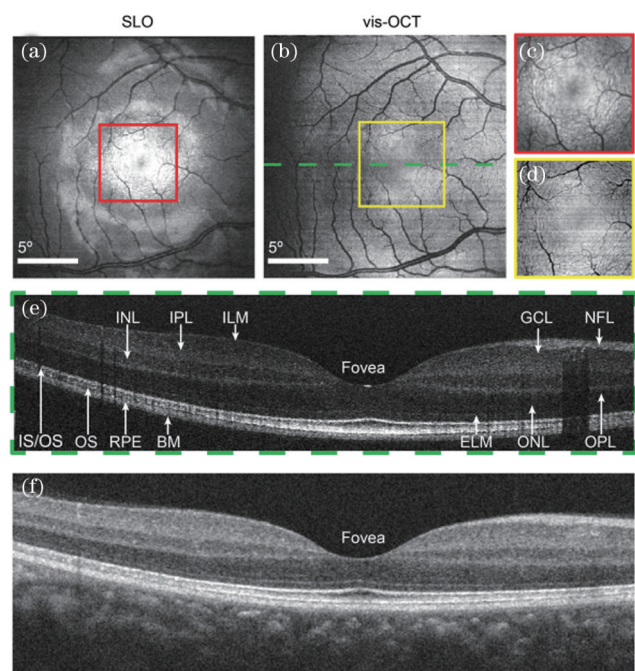


图 7 以中央凹为中心的 SLO 和 OCT 图像^[54]。(a)~(b) SLO 和 Vis-OCT 扫描图像;(c)~(d) SLO 和 Vis-OCT 扫描图像中方形区域的放大图像;(e)虚线位置视网膜横截面的 Vis-OCT 图像,并且标记了所有解剖结构;(f)使用商业 NIR-OCT 系统采集的视网膜横截面图像

Fig. 7 SLO and OCT images centered at the fovea^[54]. (a)–(b) *En-face* images of SLO and Vis-OCT; (c)–(d) enlarged images from the squared area in Figs. (a) and (b); (e) cross-sectional Vis-OCT image from the position highlighted in (b) with all anatomical structures labeled; (f) cross-sectional image obtained from a commercial NIR-OCT system

除了能够进行高分辨率视网膜成像外, Vis-OCT 还能够量化 sO_2 以及测量整个视网膜循环过程中的氧代谢情况。2017 年, Chen 等^[108]使用 Vis-OCT 测量了健康人眼视网膜循环过程中的 sO_2 , 发现靠近视神经

乳头的视网膜中央的动脉和静脉之间存在明显的氧合差异。同时, 他们提出了一种基于统计拟合的采样方法, 该方法可以从噪声影响下的 Vis-OCT 图像中获取真实的光谱信息, 提高了 sO_2 的计算精度, 将 sO_2 的估计误差降低了约 3 个百分点, 并且从理论上和实验上对该采样方法进行了验证。2016 年, Chong 等^[42]用 Vis-OCT 演示了血液流速测量、血红蛋白体内成像以及高分辨率视网膜成像。

Song 等^[56]于 2018 年使用 VN-OCT 对 RNFL、视锥细胞外层(OS)和 RPE 等重要的解剖层进行 ELSS (elastic light scattering spectroscopy) 分析, 量化人眼视网膜中不同解剖层的光学散射特性。结果表明, ELSS 分析能够反映视网膜的超微结构变化, 并且可以提供一种新的量化参数, 即 VN 比。在青光眼诊断方面, RNFL 的 VN 比会先于其层厚出现变化, 这对于青光眼的早期诊断具有重要意义, 有助于医生在疾病的更早期阶段就进行干预和治疗, 从而为患者提供更好的治疗方案。

2019 年, Shu 等^[57]使用便携式 Vis-OCT 对健康和患有视网膜闭塞病或糖尿病性视网膜病变的人眼视网膜进行成像, 展示了 Vis-OCT 在对 RNFL、视网膜外层和 RPE 进行成像时的高分辨率和高对比度优势。Vis-OCT 采集的图像无须进行任何平均处理就可以区分 RPE 和 BM 之间的边界。此外, 在对视网膜闭塞性疾病患者与糖尿病性视网膜病变患者的视网膜进行成像过程中, 可以观测到部分脉络膜区域的组织, 这可能是 RPE 细胞或 RPE 黑色素损失导致的。RPE 对可见光的强吸收特性可能会使 Vis-OCT 对这两种视网膜疾病的诊断更具优势。同年, Zhang 等^[47]实现了快速光谱整形、轴向运动跟踪和空间依赖的色散补偿等技术创新, 首次在活体人眼视网膜中观察到了 IPL 的 5 层结构以及 BM 与 RPE 之间的低反射率区域。这为研究青光眼和老年性黄斑变性等眼科疾病的早期变化提供了新的视角和潜在的生物标志物。

Song 等^[49]设计了一种用于人眼视网膜成像的 Vis-OCTA 系统, 首次实现了扫描速率为 100 kHz 的 Vis-OCT 人眼视网膜成像。通过减小光谱仪的带宽提高了 Vis-OCTA 成像的光谱功率密度, 同时保留了血液中的主要光谱对比度。血管造影将 Vis-OCTA 的血管成像检测能力提升到了微血管水平, 并能够对直径小于 100 μm 的微血管进行 sO_2 检测。健康志愿者的 Vis-OCT 血管造影和 sO_2 检测结果如图 8 所示。该系统凭借高精度的血管定位排除了其他视网膜层的混杂因素, 实现了直径小于 100 μm 的血管的 sO_2 检测, 并且验证了微血管 sO_2 检测的可重复性。

Wang 等^[46]于 2022 年设计了一种融合可见光和近红外光谱波段的双通道系统, 并使用该系统对糖尿病性视网膜病变、视网膜中央静脉阻塞和镰状细胞性视网膜病变患者的视网膜进行了成像, 展示了各种疾病

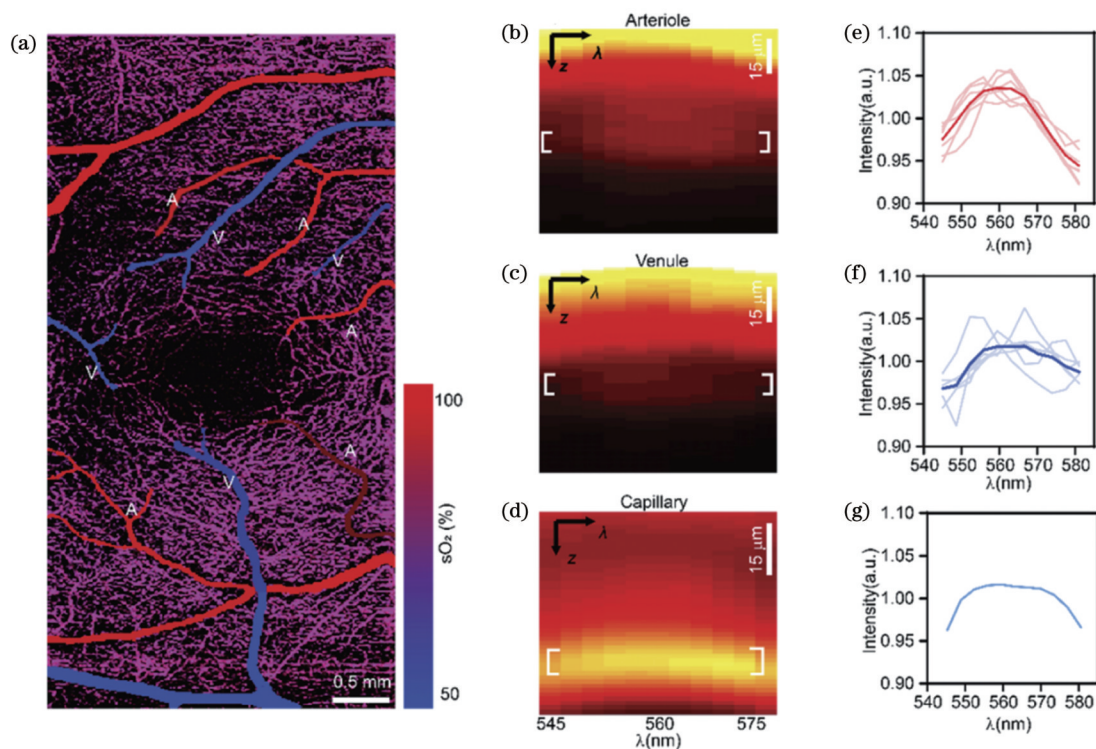


图8 通过 Vis-OCTA 对人体视网膜中的小血管和毛细血管进行 sO₂ 检测^[49]。(a) 中央凹周围区域的动脉、静脉和毛细血管上的 sO₂ 颜色编码图像;(b)~(d) 图(a)中动脉、静脉和毛细血管网络的代表性谱图;(e)~(g) 所有动脉、静脉以及毛细血管网络的测量光谱,其中实线是图(a)中所有血管的平均光谱,毛细血管光谱在整个视场内进行平均

Fig. 8 Human retinal oximetry on small vessels and capillaries by Vis-OCTA^[49]. (a) Color-coded image of sO₂ on arterioles, venules and capillaries at the perifoveal region; (b)~(d) representative spectrograms from an arteriole, a venule and the capillary network from panel (a); (e)~(g) measured spectra from all arterioles, venules, and capillary network, where the solid curves are the mean spectra from all the vessels in panel (a), and the capillary spectrum is averaged within the entire FOV

导致的视网膜结构和功能异常,比如血管结构异常、毛细血管密度减少、sO₂降低等,为视网膜疾病提供了新的见解。2021年,Zhang等^[109]使用 Vis-OCT 探索了视网膜外层的亚细胞结构,并且量化了 RPE 和 BM 的厚度和反射能力,为理解视网膜外层反射带的形成和功能提供了新的视角。Wang等^[110]于2022年首次使用 Vis-OCT 在健康志愿者的视网膜黄斑区周围测量了微血管 sO₂,分析了 sO₂与血管形态特征、眼压、杯盘比等的相关性。结果表明,静脉 sO₂与眼压、杯盘比、年龄有显著相关性,而动静脉 sO₂差与这些因素无显著相关性,这为未来使用 Vis-OCT 研究视网膜疾病导致的黄斑区氧代谢变化提供了一个重要参考。同年,Ghassabi等^[45]对人眼视网膜进行了 IPL 实验,以探索 Vis-OCT 是否能够检测健康志愿者和青光眼受试者 IPL 亚层的差异,以及 IPL 结构与青光眼的相关性。Ghassabi等使用 Vis-OCT 对9名健康志愿者和5名青光眼患者的视网膜进行了成像,并使用商业 NIR-OCT 对受试者的 RNFL 进行了测量。结果表明,健康志愿者和青光眼患者的视网膜图像都清晰地显示出了 IPL 的三个亚层,并且青光眼患者的 IPL 厚度要显著低于健康志愿者。这说明中间亚层的变化可能是青光眼 IPL 变薄的主要原因。总的来说,使用 Vis-OCT 能够

准确地量化健康志愿者和青光眼患者的 IPL 亚层,为研究视网膜神经元退化提供了一种新方法。

总而言之,Vis-OCT 为眼科研究提供了一个强大的工具,它可以无创、非侵入性地检测视网膜的结构和功能,从而有助于研究人员更好地理解视网膜疾病的发展。随着技术的不断发展和进步,Vis-OCT 在未来的眼科研究中将扮演更重要的角色,不仅可以帮助研究人员更好地理解和诊断视网膜疾病,还可以为研究糖尿病性视网膜病变、青光眼等疾病的病因和治疗方法提供重要参考。

5 结束语

Vis-OCT 作为一种新型的视网膜成像技术,使用可见光波段的光源,能够达到亚微米级的轴向分辨率,显著提高了视网膜组织图像的对比度。两种形式的血红蛋白在可见光谱范围内的光学吸收提供了出色的对比度,这使得 Vis-OCT 不仅能够通过光谱分析来量化血液的 sO₂,还可以结合视网膜血液流速测量为评估视网膜的血液循环和氧代谢状态提供有力工具。由于可见光波长在视网膜的感光波段范围内,Vis-OCT 观测到的视网膜结构和功能之间可能存在更直接的关系^[54]。

然而, Vis-OCT 技术也存在一些局限性。首先, 可见光对人眼具有一定的刺激性, 患者眼睛在扫描过程中可能会因为可见光的刺激而产生更多抖动。其次, 相比于 NIR-OCT, Vis-OCT 被允许的入眼功率更低, 从而降低了系统的信噪比。此外, Vis-OCT 常用的超连续谱光源存在更多的噪声信号, 对 Vis-OCT 系统的信噪比造成了不利影响。最后, Vis-OCT 的成像深度一般小于 NIR-OCT, 而且可能会受到眼内组织对可见光吸收和散射的限制, 在深层组织的检测方面还存在一定挑战。

尽管存在一定的局限性, Vis-OCT 技术的发展前景依然广阔。未来, 可以期待通过改进系统结构、优化图像重建算法等措施进一步提升 Vis-OCT 的成像速度、成像质量, 获取更多的视网膜结构信息和功能信息, 为眼科医生提供更准确、更可靠的诊断依据。同时, 随着 Vis-OCT 技术的不断完善和临床应用的拓展, 有望看到它在更多类型视网膜疾病的诊断和治疗中发挥重要作用。无论是对疾病的早期筛查、诊断, 还是对治疗效果的评估和监测, Vis-OCT 都将为眼科医生提供有力的支持。

综上所述, Vis-OCT 技术以其独特的优势和潜力, 在视网膜疾病的研究和临床应用中展现出了巨大价值。未来, 随着技术的不断进步和完善, 相信 Vis-OCT 将为眼科医学的发展带来更多突破和创新。

参 考 文 献

- [1] Huang D, Swanson E A, Lin C P, et al. *Optical coherence tomography*[J]. Science, 1991, 254(5035): 1178-1181.
- [2] Swanson E A, Izatt J A, Hee M R, et al. *In vivo retinal imaging by optical coherence tomography*[J]. Optics Letters, 1993, 18(21): 1864-1866.
- [3] Schuman J S, Hee M R, Puliafito C A, et al. *Quantification of nerve fiber layer thickness in normal and glaucomatous eyes using optical coherence tomography: a pilot study*[J]. Archives of Ophthalmology, 1995, 113(5): 586-596.
- [4] Kanamori A, Nakamura M, Escano M F T, et al. *Evaluation of the glaucomatous damage on retinal nerve fiber layer thickness measured by optical coherence tomography*[J]. American Journal of Ophthalmology, 2003, 135(4): 513-520.
- [5] Lu A T H, Wang M W, Varma R, et al. *Combining nerve fiber layer parameters to optimize glaucoma diagnosis with optical coherence tomography*[J]. Ophthalmology, 2008, 115(8): 1352-1357.
- [6] He X, Wang Y M, Poesi F, et al. *Exploiting multi-granularity visual features for retinal layer segmentation in human eyes*[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2023, 11: 1191803.
- [7] Fercher A F. *Optical coherence tomography: development, principles, applications*[J]. Zeitschrift Für Medizinische Physik, 2010, 20(4): 251-276.
- [8] 张璇晔, 朱疆. 内窥光学相干层析成像的研究进展与应用[J]. 中国激光, 2023, 50(21): 2107103.
Zhang X Y, Zhu J. Research progress and applications of endoscopic optical coherence tomography[J]. Chinese Journal of Lasers, 2023, 50(21): 2107103.
- [9] 梁艳梅, 杨子晗, 尚建伟, 等. 口腔癌筛查与诊断的影像学技术及发展趋势[J]. 中国激光, 2023, 50(15): 1507101.
- [10] Liang Y M, Yang Z H, Shang J W, et al. Imaging technologies for oral cancer screening and diagnosis and their development trends [J]. Chinese Journal of Lasers, 2023, 50(15): 1507101.
- [11] Hsiao T Y, Ho Y C, Chen M R, et al. *Disease activation maps for subgingival dental calculus identification based on intelligent dental optical coherence tomography*[J]. Translational Biophotonics, 2021, 3(3): e202100001.
- [12] Assayag O, Antoine M, Sigal-Zafrani B, et al. *Large field, high resolution full-field optical coherence tomography: a pre-clinical study of human breast tissue and cancer assessment*[J]. Technology in Cancer Research & Treatment, 2014, 13(5): 455-468.
- [13] Tatebe S, Fukumoto Y, Sugimura K, et al. *Optical coherence tomography is superior to intravascular ultrasound for diagnosis of distal-type chronic thromboembolic pulmonary hypertension*[J]. Circulation Journal, 2013, 77(4): 1081-1083.
- [14] Boudriot E, Schworm B, Slapakova L, et al. *Optical coherence tomography reveals retinal thinning in schizophrenia spectrum disorders*[J]. European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience, 2023, 273(3): 575-588.
- [15] Beykin G, Norcia A M, Srinivasan V J, et al. *Discovery and clinical translation of novel glaucoma biomarkers*[J]. Progress in Retinal and Eye Research, 2021, 80: 100875.
- [16] Zheng S, Bai Y R, Xu Z H, et al. *Optical coherence tomography for three-dimensional imaging in the biomedical field: a review*[J]. Frontiers in Physics, 2021, 9: 744346.
- [17] Ngo Q C, Bhowmik S, Sarossy M, et al. *Pupillary complexity for the screening of glaucoma*[J]. IEEE Access, 2021, 9: 144871-144879.
- [18] Song W Y, Zhang S, Kim Y M, et al. *Visible light optical coherence tomography of peripapillary retinal nerve fiber layer reflectivity in glaucoma*[J]. Translational Vision Science & Technology, 2022, 11(9): 28.
- [19] Wojtkowski M. *High-speed optical coherence tomography: basics and applications*[J]. Applied Optics, 2010, 49(16): D30-D61.
- [20] Fujimoto J G, Drexler W, Schuman J S, et al. *Optical coherence tomography (OCT) in ophthalmology: introduction*[J]. Optics Express, 2009, 17(5): 3978-3979.
- [21] Martin H, Kumar P, Henning A, et al. *Extended sub-surface imaging in industrial OCT using 'non-diffracting' Bessel beams*[J]. CIRP Annals, 2020, 69(1): 493-496.
- [22] Guan G Y, Hirsch M, Lu Z H, et al. *Evaluation of selective laser sintering processes by optical coherence tomography*[J]. Materials & Design, 2015, 88: 837-846.
- [23] Iff W A, Hugonin J P, Sauvan C, et al. *Electromagnetic analysis for optical coherence tomography based through silicon vias metrology*[J]. Applied Optics, 2019, 58(27): 7472-7488.
- [24] Xu J J, Song S Z, Wei W, et al. *Wide field and highly sensitive angiography based on optical coherence tomography with a kinetic swept source*[J]. Biomedical Optics Express, 2016, 8(1): 420-435.
- [25] Potsaid B, Baumann B, Huang D, et al. *Ultrahigh speed 1050 nm swept source/Fourier domain OCT retinal and anterior segment imaging at 100, 000 to 400, 000 axial scans per second*[J]. Optics Express, 2010, 18(19): 20029-20048.
- [26] Hope J, Goodwin M, Vanholsbeeck F. *Inverse spectroscopic optical coherence tomography (IS-OCT) for characterization of particle size and concentration*[J]. OSA Continuum, 2021, 4(8): 2260-2274.
- [27] Xing F J, Lee J H, Polucha C, et al. *Design and optimization of line-field optical coherence tomography at visible wavebands*[J]. Biomedical Optics Express, 2021, 12(3): 1351-1365.
- [28] Shu X, Beckmann L, Zhang H F. *Visible-light optical coherence tomography: a review*[J]. Journal of Biomedical Optics, 2017, 22(12): 121707.
- [29] Miller D T, Kocaoglu O P, Wang Q, et al. *Adaptive optics and the eye (super resolution OCT)*[J]. Eye, 2011, 25(3): 321-330.
- [30] Reche J, Stocker A B, Henchoz V, et al. *High-resolution optical coherence tomography in healthy individuals provides resolution at*

- the cellular and subcellular levels[J]. *Translational Vision Science & Technology*, 2023, 12(7): 12.
- [30] Grieve K, Thouvenin O, Sengupta A, et al. Appearance of the retina with full-field optical coherence tomography[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2016, 57(9): OCT96-OCT104.
- [31] Scholler J, Groux K, Goureau O, et al. Dynamic full-field optical coherence tomography: 3D live-imaging of retinal organoids[J]. *Light: Science & Applications*, 2020, 9: 140.
- [32] Ong J, Zarnegar A, Corradetti G, et al. Advances in optical coherence tomography imaging technology and techniques for choroidal and retinal disorders[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2022, 11(17): 5139.
- [33] Polans J, Keller B, Carrasco-Zevallos O M, et al. Wide-field retinal optical coherence tomography with wavefront sensorless adaptive optics for enhanced imaging of targeted regions[J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 8(1): 16-37.
- [34] 李召阳, 李中梁, 南楠, 等. 基于偏振 OCT 的激光焊接匙孔深度测量方法[J]. *中国激光*, 2023, 50(20): 2002106.
- Li Z Y, Li Z L, Nan N, et al. Measurement method of keyhole depth in laser welding based on polarization sensitive OCT[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2023, 50(20): 2002106.
- [35] Zhu L D, Makita S, Oida D, et al. Computational refocusing of Jones matrix polarization-sensitive optical coherence tomography and investigation of defocus-induced polarization artifacts[J]. *Biomedical Optics Express*, 2022, 13(5): 2975-2994.
- [36] Yi W, Hu K X, Wan Y, et al. A high-speed near-infrared optical coherence tomography angiography system for mouse retina[J]. *Journal of Luminescence*, 2024, 270: 120550.
- [37] Song G, Chu K K, Kim S, et al. First clinical application of low-cost OCT[J]. *Translational Vision Science & Technology*, 2019, 8(3): 61.
- [38] Kim S, Crose M, Eldridge W J, et al. Design and implementation of a low-cost, portable OCT system[J]. *Biomedical Optics Express*, 2018, 9(3): 1232-1243.
- [39] Drexler W. Ultrahigh-resolution optical coherence tomography[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2004, 9(1): 47-74.
- [40] Schmitt J M. Optical coherence tomography (OCT): a review[J]. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 1999, 5(4): 1205-1215.
- [41] Lichtenegger A, Harper D J, Augustin M, et al. Spectroscopic imaging with spectral domain visible light optical coherence microscopy in Alzheimer's disease brain samples[J]. *Biomedical Optics Express*, 2017, 8(9): 4007-4025.
- [42] Chong S P, Bernucci M, Radhakrishnan H, et al. Structural and functional human retinal imaging with a fiber-based visible light OCT ophthalmoscope[J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 8(1): 323-337.
- [43] Alexopoulos P, Madu C, Wollstein G, et al. The development and clinical application of innovative optical ophthalmic imaging techniques[J]. *Frontiers in Medicine*, 2022, 9: 891369.
- [44] Povazay B, Apolonski A A, Unterhuber A, et al. Visible light optical coherence tomography[J]. *Proceedings of SPIE*, 2002, 4619: 90-94.
- [45] Ghassabi Z, Kuranov R V, Schuman J S, et al. *In vivo* sublayer analysis of human retinal inner plexiform layer obtained by visible-light optical coherence tomography[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2022, 63(1): 18.
- [46] Wang J Y, Baker A, Subramanian M L, et al. Simultaneous visible light optical coherence tomography and near infrared OCT angiography in retinal pathologies: a case study[J]. *Experimental Biology and Medicine*, 2022, 247(5): 377-384.
- [47] Zhang T W, Kho A M, Srinivasan V J. Improving visible light OCT of the human retina with rapid spectral shaping and axial tracking[J]. *Biomedical Optics Express*, 2019, 10(6): 2918-2931.
- [48] Chen S Y, Shu X, Yi J, et al. Dual-band optical coherence tomography using a single supercontinuum laser source[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2016, 21(6): 066013.
- [49] Song W Y, Shao W J, Yi W, et al. Visible light optical coherence tomography angiography (vis-OCTA) facilitates local microvascular oximetry in the human retina[J]. *Biomedical Optics Express*, 2020, 11(7): 4037-4051.
- [50] Geevarghese A, Wollstein G, Ishikawa H, et al. Optical coherence tomography and glaucoma[J]. *Annual Review of Vision Science*, 2021, 7: 693-726.
- [51] Gangnus S V, Matcher S J. Visible-light OCT spectrometer for microvascular oximetry[J]. *Proceedings of SPIE*, 2008, 6847: 68471D.
- [52] Yi J, Wei Q, Liu W Z, et al. Visible-light optical coherence tomography for retinal oximetry[J]. *Optics Letters*, 2013, 38(11): 1796-1798.
- [53] Yi J, Liu W Z, Chen S Y, et al. Visible light optical coherence tomography measures retinal oxygen metabolic response to systemic oxygenation[J]. *Light: Science & Applications*, 2015, 4(9): 334.
- [54] Yi J, Chen S Y, Shu X, et al. Human retinal imaging using visible-light optical coherence tomography guided by scanning laser ophthalmoscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2015, 6(10): 3701-3713.
- [55] Nafar Z, Jiang M S, Wen R, et al. Visible-light optical coherence tomography-based multimodal retinal imaging for improvement of fluorescent intensity quantification[J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 7(9): 3220-3229.
- [56] Song W Y, Zhou L B, Zhang S, et al. Fiber-based visible and near infrared optical coherence tomography (vnOCT) enables quantitative elastic light scattering spectroscopy in human retina[J]. *Biomedical Optics Express*, 2018, 9(7): 3464-3480.
- [57] Shu X, Beckmann L, Wang Y B, et al. Designing visible-light optical coherence tomography towards clinics[J]. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, 2019, 9(5): 769-781.
- [58] Song W Y, Shao W J, Yi J. Wide-field and micron-resolution visible light optical coherence tomography in human retina by a linear-K spectrometer[C]//*Biophotonics Congress 2021*, April 12-16, 2021, Washington, DC. Washington, DC: Optica Publishing Group, 2021: DM2A.4.
- [59] Abbas G, Chan V, Ting Y E. A dual-detector optical heterodyne receiver for local oscillator noise suppression[J]. *Journal of Lightwave Technology*, 1985, 3(5): 1110-1122.
- [60] de Boer J F, Leitgeb R, Wojtkowski M. Twenty-five years of optical coherence tomography: the paradigm shift in sensitivity and speed provided by Fourier domain OCT[J]. *Biomedical Optics Express*, 2017, 8(7): 3248-3280.
- [61] Kuo W C, Lai C M, Huang Y S, et al. Balanced detection for spectral domain optical coherence tomography[J]. *Optics Express*, 2013, 21(16): 19280-19291.
- [62] Rubinoff I, Miller D A, Kuranov R, et al. High-speed balanced-detection visible-light optical coherence tomography in the human retina using subpixel spectrometer calibration[J]. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 2022, 41(7): 1724-1734.
- [63] Garg A K, Knight D, Lando L, et al. Advances in retinal oximetry[J]. *Translational Vision Science & Technology*, 2021, 10(2): 5.
- [64] Wang J Y, Nolen S, Song W Y, et al. A dual-channel visible light optical coherence tomography system enables wide-field, full-range, and shot-noise limited human retinal imaging[J]. *Communications Engineering*, 2024, 3: 21.
- [65] Caprara C, Grimm C. From oxygen to erythropoietin: relevance of hypoxia for retinal development, health and disease[J]. *Progress in Retinal and Eye Research*, 2012, 31(1): 89-119.
- [66] Wangsa-Wirawan N D. Retinal oxygen: fundamental and clinical aspects[J]. *Archives of Ophthalmology*, 2003, 121(4): 547-557.
- [67] Hammer M, Vilser W, Riemer T, et al. Diabetic patients with retinopathy show increased retinal venous oxygen saturation[J]. *Graefes' s Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 2009, 247(8): 1025-1030.
- [68] Hardarson S H, Stefánsson E. Retinal oxygen saturation is altered

- in diabetic retinopathy[J]. The British Journal of Ophthalmology, 2012, 96(4): 560-563.
- [69] Liu W Z, Wang S J, Soetikno B, et al. Increased retinal oxygen metabolism precedes microvascular alterations in type 1 diabetic mice[J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2017, 58(2): 981-989.
- [70] Nesper P L, Soetikno B T, Zhang H F, et al. OCT angiography and visible-light OCT in diabetic retinopathy[J]. Vision Research, 2017, 139: 191-203.
- [71] Kashani A H, Chen C L, Gahm J K, et al. Optical coherence tomography angiography: a comprehensive review of current methods and clinical applications[J]. Progress in Retinal and Eye Research, 2017, 60: 66-100.
- [72] White B R, Pierce M C, Nassif N, et al. *In vivo* dynamic human retinal blood flow imaging using ultra-high-speed spectral domain optical coherence tomography[J]. Optics Express, 2003, 11(25): 3490-3497.
- [73] Wang Y M, Bower B A, Izatt J A, et al. *In vivo* total retinal blood flow measurement by Fourier domain Doppler optical coherence tomography[J]. Journal of Biomedical Optics, 2007, 12(4): 041215.
- [74] Song W Y, Zhou L B, Kot K L, et al. Measurement of flow-mediated dilation of mouse femoral artery *in vivo* by optical coherence tomography[J]. Journal of Biophotonics, 2018, 11(11): e201800053.
- [75] Liu W Z, Jiao S L, Zhang H F. Accuracy of retinal oximetry: a Monte Carlo investigation[J]. Journal of Biomedical Optics, 2013, 18(6): 066003.
- [76] Chen S Y, Yi J, Liu W Z, et al. Monte Carlo investigation of optical coherence tomography retinal oximetry[J]. IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering, 2015, 62(9): 2308-2315.
- [77] Faber D J, van Leeuwen T G. Are quantitative attenuation measurements of blood by optical coherence tomography feasible? [J]. Optics Letters, 2009, 34(9): 1435-1437.
- [78] Danielli A, Maslov K, Xia J, et al. Wide range quantitative photoacoustic spectroscopy to measure non-linear optical absorption of hemoglobin[J]. Proceedings of SPIE, 2012, 8223: 82233H.
- [79] Bosschaert N, Edelman G J, Aalders M C G, et al. A literature review and novel theoretical approach on the optical properties of whole blood[J]. Lasers in Medical Science, 2014, 29(2): 453-479.
- [80] Rubinoff I, Kuranov R V, Fang R, et al. Adaptive spectroscopic visible-light optical coherence tomography for clinical retinal oximetry[J]. Communications Medicine, 2023, 3(1): 57.
- [81] Hammes H P. Pericytes and the pathogenesis of diabetic retinopathy[J]. Hormone and Metabolic Research, 2005, 37(Suppl 1): 39-43.
- [82] Soetikno B T, Yi J, Shah R, et al. Inner retinal oxygen metabolism in the 50/10 oxygen-induced retinopathy model[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 16752.
- [83] Weinreb R N, Leung C K S, Crowston J G, et al. Primary open-angle glaucoma[J]. Nature Reviews: Disease Primers, 2016, 2: 16067.
- [84] Zhang X Y, Hu J M, Knighton R W, et al. Dual-band spectral-domain optical coherence tomography for *in vivo* imaging the spectral contrasts of the retinal nerve fiber layer[J]. Optics Express, 2011, 19(20): 19653-19659.
- [85] Rubinoff I, Beckmann L, Wang Y, et al. Speckle reduction in visible-light optical coherence tomography using scan modulation [J]. Neurophotonics, 2019, 6(4): 041107.
- [86] Song W Y, Fu S P, Song S S, et al. Longitudinal detection of retinal alterations by visible and near-infrared optical coherence tomography in a dexamethasone-induced ocular hypertension mouse model[J]. Neurophotonics, 2019, 6(4): 041103.
- [87] Pi S H, Hormel T T, Wei X, et al. Imaging retinal structures at cellular-level resolution by visible-light optical coherence tomography[J]. Optics Letters, 2020, 45(7): 2107-2110.
- [88] Beckmann L, Cai Z, Cole J, et al. *In vivo* imaging of the inner retinal layer structure in mice after eye-opening using visible-light optical coherence tomography[J]. Experimental Eye Research, 2021, 211: 108756.
- [89] Grannonic M, Miller D A, Liu M N, et al. Global and regional damages in retinal ganglion cell axon bundles monitored non-invasively by visible-light optical coherence tomography fibergraphy [J]. The Journal of Neuroscience, 2021, 41(49): 10179-10193.
- [90] Pi S H, Wang B J, Gao M, et al. Longitudinal observation of retinal response to optic nerve transection in rats using visible light optical coherence tomography[J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2023, 64(4): 17.
- [91] Chauhan P, Kho A M, Srinivasan V J. From soma to synapse: imaging age-related rod photoreceptor changes in the mouse with visible light OCT[J]. Ophthalmology Science, 2023, 3(4): 100321.
- [92] Zhang X, Beckmann L, Miller D A, et al. *In vivo* imaging of Schlemm's canal and limbal vascular network in mouse using visible-light OCT[J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2020, 61(2): 23.
- [93] Shah R S, Soetikno B T, Yi J, et al. Visible-light optical coherence tomography angiography for monitoring laser-induced choroidal neovascularization in mice[J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2016, 57(9): OCT86-OCT95.
- [94] Liu R R, Song W Y, Backman V, et al. Quantitative quality-control metrics for *in vivo* oximetry in small vessels by visible light optical coherence tomography angiography[J]. Biomedical Optics Express, 2019, 10(2): 465-486.
- [95] Anderson D R. Collaborative normal tension glaucoma study[J]. Current Opinion in Ophthalmology, 2003, 14(2): 86-90.
- [96] Østergaard L, Engedal T S, Aamand R, et al. Capillary transit time heterogeneity and flow-metabolism coupling after traumatic brain injury[J]. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 2014, 34(10): 1585-1598.
- [97] Iadecola C. Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease[J]. Nature Reviews Neuroscience, 2004, 5(5): 347-360.
- [98] Vazquez A L, Masamoto K, Kim S G. Dynamics of oxygen delivery and consumption during evoked neural stimulation using a compartment model and CBF and tissue P_{O_2} measurements[J]. NeuroImage, 2008, 42(1): 49-59.
- [99] Mintun M A, Raichle M E, Martin W R, et al. Brain oxygen utilization measured with O-15 radiotracers and positron emission tomography[J]. Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine, 1984, 25(2): 177-187.
- [100] Chong S P, Merkle C W, Leahy C, et al. Quantitative microvascular hemoglobin mapping using visible light spectroscopic optical coherence tomography[J]. Biomedical Optics Express, 2015, 6(4): 1429-1450.
- [101] Srinivasan V J, Mandeville E T, Can A, et al. Multiparametric, longitudinal optical coherence tomography imaging reveals acute injury and chronic recovery in experimental ischemic stroke[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e71478.
- [102] Chong S P, Merkle C W, Leahy C, et al. Cerebral metabolic rate of oxygen (CMRO₂) assessed by combined Doppler and spectroscopic OCT[J]. Biomedical Optics Express, 2015, 6(10): 3941-3951.
- [103] Chen S Y, Liu Q, Shu X, et al. Imaging hemodynamic response after ischemic stroke in mouse cortex using visible-light optical coherence tomography[J]. Biomedical Optics Express, 2016, 7(9): 3377-3389.
- [104] Reddy N, Nguyen B T. The utility of optical coherence tomography for diagnosis of basal cell carcinoma: a quantitative review[J]. British Journal of Dermatology, 2019, 180(3): 475-483.
- [105] Liu M Y, Drexler W. Optical coherence tomography angiography and photoacoustic imaging in dermatology[J]. Photochemical & Photobiological Sciences, 2019, 18(5): 945-962.

- [106] Dong W, Xia A P, Raphael P D, et al. Organ of Corti vibration within the intact gerbil cochlea measured by volumetric optical coherence tomography and vibrometry[J]. Journal of Neurophysiology, 2018, 120(6): 2847-2857.
- [107] He W X, Kemp D, Ren T Y. Timing of the reticular lamina and basilar membrane vibration in living gerbil cochleae[J]. eLife, 2018, 7: e37625.
- [108] Chen S Y, Shu X, Nesper P L, et al. Retinal oximetry in humans using visible-light optical coherence tomography[J]. Biomedical Optics Express, 2017, 8(3): 1415-1429.
- [109] Zhang T W, Kho A M, Yiu G, et al. Visible light optical coherence tomography (OCT) quantifies subcellular contributions to outer retinal band 4[J]. Translational Vision Science & Technology, 2021, 10(3): 30.
- [110] Wang J Y, Song W Y, Sadlak N, et al. A baseline study of oxygen saturation in parafoveal vessels using visible light optical coherence tomography[J]. Frontiers in Medicine, 2022, 9: 886576.

Development of Visible-Light OCT: A Review (Invited)

Song Weiye^{1,2*}, Yao Zhengkai^{1,2}, Wu Fuwang^{1,2}, Hu Kaixuan^{1,2}, Jiang Xianchun^{1,2}

¹*School of Mechanical Engineering, Shandong University, Jinan 250061, Shandong, China;*

²*Key Laboratory of High Efficiency and Clean Mechanical Manufacture of Ministry of Education, Shandong University, Jinan 250061, Shandong, China*

Abstract

Significance Optical coherence tomography (OCT) technology was proposed in 1991. Based on the principle of low-coherence light interference, OCT features high resolution and a high signal-to-noise ratio; it is also non-invasive, non-destructive, and capable of three-dimensional imaging. It enables the imaging of microstructures within biological tissues, with significant application potential in fields such as biology, medicine, and materials. Consequently, it stands as one of the focal points in modern optical imaging research.

The resolution plays a crucial role in the assessment of OCT because it directly impacts the image quality, thereby influencing the accuracy of disease diagnosis and condition assessment by medical professionals. Therefore, the pursuit of high resolution has been one of the primary directions in the development of OCT technology. Vis-OCT, which utilizes visible light with shorter wavelengths for imaging, offers higher lateral and axial resolution, enabling a finer depiction of microstructures within biological tissues.

In comparison to NIR-OCT, which is commonly used in hospitals, Vis-OCT not only provides higher image resolution but also yields images with higher contrast, thereby revealing more information about biological tissues. The high resolution and contrast of Vis-OCT make it promising for widespread applications in fields such as ophthalmology and dermatology. By providing doctors with more detailed and precise image information, it facilitates more accurate observations and diagnoses of pathological tissues. Additionally, Vis-OCT can quantify sO₂ through spectral analysis, providing a powerful tool for assessing retinal blood circulation and oxygen metabolism. Lastly, because the wavelength of visible light falls within the sensing spectrum of the retina, there may be a more direct relationship between the structure and function of the retina that can be observed by Vis-OCT, making these advantages worthy of further research.

In practical applications, researchers have already conducted studies using Vis-OCT for various diseases. They have validated its ability to diagnose diseases such as glaucoma, macular lesions, and diabetic retinopathy and have identified some early biomarkers of diseases. This facilitates early intervention and treatment by medical professionals, thus providing better treatment outcomes and vision protection for patients.

This paper provides an overview of Vis-OCT, introducing its technical characteristics and current applications and discussing future development trends. This will allow readers to better understand its advantages in medical imaging and recognize its value and significance in medical practice.

Progress This paper reviews the progress of Vis-OCT research in the areas of system structure optimization, functional imaging research, animal imaging research, and clinical applications.

In terms of system structure and functional imaging research, the article discusses the advantages and disadvantages of spatial coupling and couplers, along with related work. Additionally, in spectral analyzer optimization, the introduction of prisms achieves *K*-domain linearization, reducing errors in data processing, and the use of dual spectrometers improves the signal-to-noise ratio of the system. Furthermore, modulating the reference light path doubles the total imaging depth range and corrects the retinal curvature of wide-field imaging. This article also introduces the principles of DOCT, OCTA, and sO₂ detection.

Regarding mouse retinal imaging, this article describes the use of Vis-OCT for sO₂ detection in mouse retinas and the quantification of the mouse retinal oxygen metabolism rate. Additionally, this paper shows how researchers use Vis-OCT to observe the effects of prematurity on mouse retinal lesions, dexamethasone-induced high intraocular pressure, damage to RGC axon bundles,

optic nerve transection, and aging on mouse retinas.

In terms of clinical applications, the article reviews research related to the use of Vis-OCT for retinal diseases such as glaucoma, retinal occlusive disease, diabetic retinopathy, and sickle cell retinopathy. At the same time, the article compares Vis-OCT with NIR-OCT in human retinal imaging, demonstrating the advantages and disadvantages of Vis-OCT.

Conclusions and Prospects Vis-OCT technology can achieve submicron-level retinal imaging resolution, which significantly improves image quality. Moreover, it quantifies sO_2 through spectral analysis and, combined with blood flow measurements, provides a new means of evaluating retinal circulation and oxygen metabolism. The match between visible light and the retinal sensing spectrum allows Vis-OCT to more directly reflect the relationship between the retinal structure and function.

However, Vis-OCT also has some limitations. Its comfort level is relatively low, which limits its clinical application. Additionally, noise from super-continuum spectral sources reduces its signal-to-noise ratio. Furthermore, Vis-OCT has a limited imaging depth, which makes it challenging to observe deep tissues.

Nevertheless, the future of Vis-OCT is promising. The imaging speed and quality can be improved by optimizing the system structures and image algorithms, which will provide ophthalmologists with more accurate diagnostic criteria. After improving the technology and expanding the applications, Vis-OCT is expected to play a significant role in screening and diagnosing retinal diseases as well as evaluating their treatment outcomes.

In conclusion, Vis-OCT exhibits significant value in retinal disease research and clinical practice because of its unique advantages. The ongoing technological advancements should lead to further innovations and breakthroughs in ophthalmology.

Key words optical coherence tomography; visible-light; imaging system; retinal imaging; blood oxygen saturation test