

文章编号: 0258-7025(2003)07-0668-05

## 血液灌注率动态变化的光学监测

程海英<sup>1</sup>, 朱 荃<sup>1</sup>, 骆清铭<sup>1</sup>, 曾绍群<sup>1</sup>, 王 征<sup>1</sup>, Sergey S. Ul'yanov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 华中科技大学生物医学光子学教育部重点实验室, 湖北 武汉 430074

<sup>2</sup> Department of Optics, Saratov State University, Astrakhanskaya 83, Saratov, Russia 410026

**摘要** 研究了利用激光散斑测速原理结合 CCD 成像技术对大鼠肠系膜上血液灌注变化进行监测的技术。设计了用于监测大鼠肠系膜上微血管血流速度的激光散斑测量系统, 通过模型实验对该测量系统的技术参数、测试精度进行分析, 在此基础上, 对热作用下大鼠肠系膜上微血管血流速度的变化进行动态监测, 结合 CCD 成像技术, 监测血管直径的变化, 从而获得不同温度下血液灌注率的变化。

**关键词** 血液生理学; 血液灌注; 激光散斑; 肠系膜; 血流速度; CCD 成像

**中图分类号** R 318.51 **文献标识码** A

## Optical Monitoring of the Dynamic Change of Blood Perfusion

CHENG Hai-ying<sup>1</sup>, ZHU Dan<sup>1</sup>, LUO Qing-ming<sup>1</sup>,

ZENG Shao-qun<sup>1</sup>, WANG Zheng<sup>1</sup>, Sergey S. Ul'yanov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> The Key Laboratory of Biomedical Photonics of Ministry of Education of China, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430074, China

<sup>2</sup> Department of Optics, Saratov State University, Astrakhanskaya 83, Saratov, Russia 410026

**Abstract** A technique of monitoring the change of blood perfusion utilizing the principle of laser speckle technique combined with CCD imaging method was studied. A laser speckle measurement system of measuring the velocities of blood flow in rat's mesentery was designed in present paper. The parameter and precision of the system was testified by a model experiment. On this basis, the dynamic changes of the velocities of the blood flow in rat's mesentery under different temperatures were measured. Meanwhile, the diameter of blood vessels was measured with CCD camera. With these measurements, changes of blood perfusion by heat were studied. The results indicated that this system and method could be used to monitor the change of blood perfusion effectively. This work provides a new method to measure thermal induced change in blood perfusion of tissue.

**Key words** bloodphysiology; blood perfusion; laser speckle; mesentery; velocity of blood flow; CCD imaging

### 1 引 言

活体组织血液灌注率对组织内物质与能量的传输具有重要的作用, 很多因素如药物传递、热作用、甚至噪声等均会引起血液灌注率的变化<sup>[1~3]</sup>。准确测量血液灌注率对实现疾病诊断、药物输运、肿瘤热疗等临床应用是至关重要的<sup>[4]</sup>。

生物组织的血液灌注反映的是毛细血管网与直径为数十微米的小动脉、小静脉等微血管中的血流情况, 血液灌注率指单位组织体积单位时间的血流速率<sup>[5]</sup>。现有的测量血液灌注率的方法主要有热物理方法和激光多普勒技术。热物理方法是通过测量热源作用下温度场的变化, 利用数值求解 Pennes 方

**收稿日期:** 2002-03-13; **收到修改稿日期:** 2002-05-20

**基金项目:** 国家自然科学基金(批准号: 59836240)和国家杰出青年科学基金(批准号: 60025514)、中国博士后科学基金(批准号: 2002031256)资助项目。

**作者简介:** 程海英(1975. 10—), 女, 湖北黄冈人, 华中科技大学生物医学光子学教育部重点实验室 2000 级博士研究生, 主要从事生物医学光子学研究。E-mail: chhyibp@sina.com

程来估计血液灌注率<sup>[6]</sup>。该方法只适用于恒定血液灌注率的测量。近年来,倍受瞩目的相位移动技术虽然能对具有温度依赖性的血液灌注率进行测量,但由于必须事先知道血液灌注率与温度的依赖关系<sup>[7]</sup>,而这种关系一般都是未知的,因而利用该方法也难以实现监测血液灌注率的动态变化。激光多普勒技术测量血液灌注率<sup>[8]</sup>是基于有效多普勒频移量同光子与运动细胞碰撞的次数和细胞平均速率的乘积成正比这一关系,由此提供微血管内颗粒物质流动的流量参数。在该技术中,由于探测到的多普勒频移量(即血流量)反映的是激光探测深度范围内光子所经过的路径上所有运动颗粒引起的多普勒频移,包括血细胞、白细胞和血小板的流动、血管内皮细胞舒缩运动、肌肉颤动、呼吸波和血浆有形成分的“布朗运动”等。通常该技术的空间分辨率约在  $1 \text{ mm}^3$ <sup>[9]</sup>,因此,将该技术用于血液灌注率研究时,获得的结果中包含的影响因素很多,不便于血液灌注理论研究的深入分析,并且用于测量血液灌注率的激光多普勒仪器也比较昂贵。为解决这一问题,我们提出一种用于测量血液灌注率动态变化的简便光学方法,即将激光散斑与 CCD 显微成像技术相结合,前者利用聚焦的激光束测量单个微血管内流速的变化,后者用于监测相应血管管径的变化,进而获得血液灌注率的变化。

## 2 实验原理与实验系统

### 2.1 散斑跨零点法的基本原理

利用激光散斑测量速度的方法有许多<sup>[10~12]</sup>,散斑跨零点法是描述散斑的统计特性和散射体运动关系的众多统计方法之一,它用来表示散斑光强起伏的频度与散射体运动速度之间的关系。用公式<sup>[10~12]</sup>可表示为

$$N = 2 \sqrt{\int_{-\infty}^{\infty} f^2 \Phi_q(f) df / \int_{-\infty}^{\infty} \Phi_q(f) df} \quad (1)$$

这里  $N$  表示单位时间内散斑光强信号  $I(t)$  的跨零次数,  $\Phi_q(f)$  表示光强信号的功率谱,已有的研究表明<sup>[12]</sup> 散射介质的速度  $V$  与  $N$  之间为成正比关系:  $N = k|V|$ , 其中  $k$  值为一常数。即  $N$  值反映了散射介质的相对速度。但值得注意的是,此公式成立的前提是光电探测器上的空间积分散斑光强的分布近似为高斯分布,按中心极限定理<sup>[13]</sup>,当包含的散斑个数大于 10 以上,可以得到很好的近似高斯分布。图 1 显示了激光束照射在漫射体上,探测器在散斑场中探

测的示意图。这里  $\lambda$  为激光波长,  $\omega$  为照射在散射介质上的光斑尺寸,  $Z$  为探测器的接收面到光斑  $\omega$  所在平面的距离,探测器孔径为  $d$ 。根据激光散斑理论<sup>[12]</sup>,在探测器表面上的散斑尺寸大小为  $\lambda Z / \pi \omega$ 。则探测器面积为  $\pi(d/2)^2$ , 由于单个散斑面积为  $\pi(\lambda Z / 2\pi \omega)^2$ , 那么探测器孔径内包含的散斑个数为  $(d\pi\omega / \lambda Z)^2$ 。

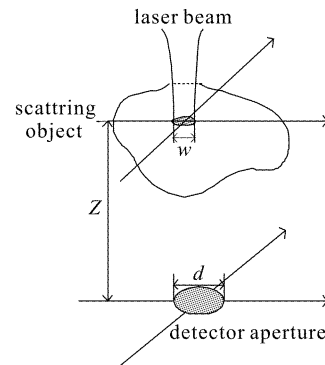


图 1 激光散斑测量参数示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the parameters of the speckle technique

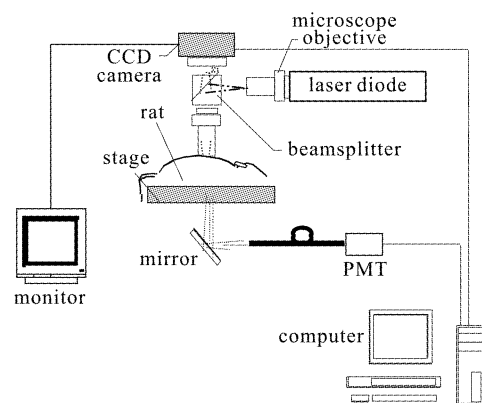


图 2 测量系统示意图

Fig. 2 Schematic diagram outlining the equipment used in the experiment

### 2.2 实验系统

激光二极管(630~680 nm, 5 mW)通过普通生物显微镜的一侧目镜聚焦于样品待检测处,光斑尺寸  $\omega$  约为  $10 \mu\text{m}$ 。经过样品调制的散斑信号由光纤耦合后为 PMT 探测,探测器孔径  $d$  为 8 mm,光强信号最后通过 A/D 采集卡,由计算机采集,采样频率为 4000 Hz。PMT 所在探测平面距离样品平面  $Z$  为 6 cm。显微镜的另一侧目镜则用于 CCD 摄像机记录,获取的图像信息可通过监视器观察。根据上述散斑跨零点法的原理,依照系统的测量参数,可

知探测器孔径内包含的散斑个数约为  $(d\pi w/\lambda Z)^2 = 41$  个,即符合散斑跨零点法的要求。实验装置示意图如图 2 所示。

### 3 模型实验

#### 3.1 模型实验方法

为对该系统的技术参数、测试精度进行分析,我们设计了模型实验。让浓度为 2% 的英脱利匹特 (intralipid) 溶液通过输液管流进一根直径为 1.4 mm 的塑料微管。调节输液管流速控制夹和改变输液管高度,可控制 intralipid 流速的快慢。塑料微管的另一端连着一根 1 mL 的移液管,激光束经一侧目镜聚焦在塑料微管中间。由于单位时间内移液管中 intralipid 溶液流量和待测量处微管的流量  $\Delta Q$  相等,设待监测处的平均速度为  $V$ ,则  $\Delta Q = \pi(R/2)^2 V$ ,  $V = \frac{4\Delta Q}{\pi R^2}$ ,其中  $R$  代表待测处微管的管径,即由单位时间内的流量来推算出待监测处塑料微管内 intralipid 溶液的平均流速。改变 intralipid 溶液流速,利用散斑跨零点法测量不同流速条件下待监测管径处的流速。

#### 3.2 模型实验结果

图 3 显示的是不同速度对应的散斑跨零点次数 (显示的实验数据点为同一流速条件下测量 5 次获得的平均值)。直线是根据最小二乘法获得的拟合曲线,即理论结果。由于我们关心的血流速度多在几个 mm/s 范围内,因而在图 3 上面将 0~5 mm/s 范围内散斑跨零点次数和速度之间的关系曲线以放大形式给出。流速在 0~42 mm/s 范围内获得的散斑跨零点次数和速度成正比。拟合直线表示根据散斑跨零点法原理获得的在不同流速条件下的跨零点值,以此代表系统测量的真实值,即当系统不存在误差时,在不同流速条件下获得的跨零点值。而在不同速度条件下实际获得散斑跨零点次数为系统的测

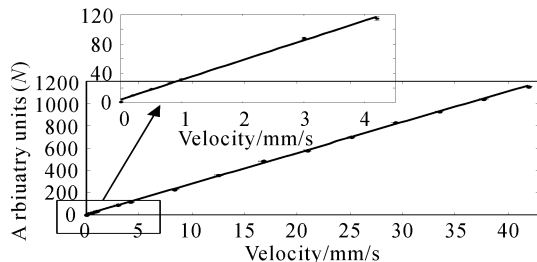


图 3 不同速度对应的散斑跨零点值  
Fig. 3 Zero-crossings corresponding to different velocities

量值,真实值与测量值之间存在偏差,将这种散斑跨零点次数偏差通过拟合曲线映射到速度上,可获得速度的偏差。将不同条件下的速度偏差与实际速度的比值计算出来,如图 4 所示。该图表明在 0~42 mm/s 范围内,该系统对速度测量误差在  $\pm 5.2\%$ ;而在低速范围内如 0~12 mm/s,系统的速度测量误差约在  $\pm 1\%$  左右。由于在本实验条件下,测量处的管径不变,速度与流量成正比,因此速度的变化即反映了单位时间内流量的变化。下面我们将该系统应用于监测大鼠肠系膜上血液灌注率的变化。

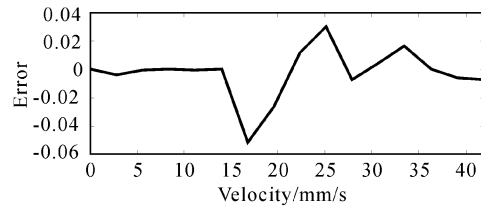


图 4 系统的速度测量误差  
Fig. 4 Velocity error of the system

## 4 对大鼠肠系膜血液灌注率动态变化的光学监测

#### 4.1 实验方法

实验对象为体重约 120~200 g 的大鼠 (Wistar, 20 只),采用肌肉注射麻醉剂 (2% 水合氯醛和 10% 乌拉坦混合, 0.9 ml/100 g) 麻醉法以减轻麻醉剂对微循环血流的影响,待大鼠麻醉后,将其置于 38℃ 恒温台上,于腹腔中线处划开长约 1 cm 的切口,选取一段肠系膜,在恒温台的玻璃凸窗上铺平。玻璃凸窗置于显微镜的视野中央,在显微镜下找到血管,测量时将激光束聚焦于待测血管中央。实验过程中不断滴加 38℃ 的 pH 值为 7.4 的 Krebs 溶液,来维持其正常的生理活动<sup>[14]</sup>。采用持续滴加高于体温的 Krebs 溶液来研究热作用对肠系膜上血流的影响。

实验主要对肠系膜上管径为 15~50  $\mu\text{m}$  的微血管在不同温度 (40℃, 45℃, 50℃, 55℃, 60℃) 下的血流速度进行了动态测量,由于绝大多数血管在 60℃ 温度下加热 1 min 后血流均会停止,因此更高温度的测量没有意义。其具体的测量步骤为:

打开显微镜光源,将激光束聚焦到待测量的血管处;将要滴加的 Krebs 溶液 (pH 值 7.4) 加热到所需的恒定温度,然后将此溶液均匀地滴加大鼠肠系膜上,滴加过程持续 1 min;利用 CCD 相机记录待测血管直径;关闭显微镜光源,测量被血流调制的

散斑信号,每次测量时间为 10 s;根据公式(1),处理数据,获得该温度下的相对血流速度  $N$  值;根据速度和管径的改变量来获取血液灌注率(血流量)的变化。

#### 4.2 结果与讨论

激光散斑与激光多普勒两种光学技术对于测量线状的流速来说,其实质是相同的,它们相当于从两个不同角度来对待同一种现象<sup>[15]</sup>。关于散斑跨零法理论的正确性和实验验证已有专门研究<sup>[12]</sup>。本文利用该方法建立散斑测速系统,通过模型实验对该系统的性能参数进行分析,结果表明在微循环血流速度范围内,系统的测量误差范围在 $\pm 1\%$ 左右。

利用该系统对大鼠肠系膜的血流速度进行监测,获得的血流速度随温度的变化平均统计结果如图 5。在温度上升过程中,血流速度首先增加,而后随着温度的上升而下降。在 45℃左右,血流速度达到最大值,加热到 60℃时血流停止流动。血流速度的变化均大于系统的最大测量误差。这里由于激光散斑测量系统对血流速度的测定是一种相对测量方法<sup>[16]</sup>,因此将正常体温下(38℃)的测量值(血管流速)设定为 1,其他温度下的速度表示为与该值的比值。在实验过程中同时利用 CCD 成像技术记录血管在热作用下的管径变化,同样将正常体温下测量的管径值设定为 1,其他温度下的管径值表示为与该值的比值。结果如图 6 所示。血管直径变化的大体趋势是随着温度的升高而逐渐增加,到 60℃时略有减小。在获得血流速度和血管直径后,将对单位时间内血流量的变化进行计算。血流量的计算根据:设在温度 1 和 2 的条件下,血管直径和血流速度分别为  $D_1, D_2$  和  $V_1, V_2$ ,则在这两种条件下单位时间内的血流  $Q_1, Q_2$  分别为  $\pi V_1 D_1^2 / 4$  和  $\pi V_2 D_2^2 / 4$ ,则两种温度下单位时间内的血流量变化  $\Delta Q = \pi / 4 (V_1 D_1^2 - V_2 D_2^2)$ 。按照此原理,根据图 5 和图 6 中血流速度和血管直径的变化,可计算出血液量的改变,即血液灌注量的变化。结果如图 7 所示。血液灌注量首先随温度的上升而增大,后随温度的升高而下降。在 45℃时血流量达到最大值。

与激光多普勒测量血液灌注这种适用于临床无损的方法相比,该方法适合用于微创性的基础研究。由于它获得的是聚焦点处的单个血管内血流量变化,因而相比之下具有更高的空间分辨率,同时在测量中也排除了由于周围组织的变化而引入的噪声,便于分析血液灌注率的影响因素。虽然该方法中速度和管径并非同时测量(两者间隔 10 s),但由于在

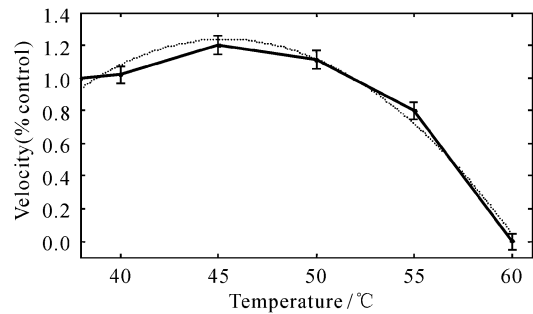


图 5 大鼠肠系膜上的血流速度随温度的变化  
Fig. 5 Velocity of the mesentery blood flow varied with the temperature

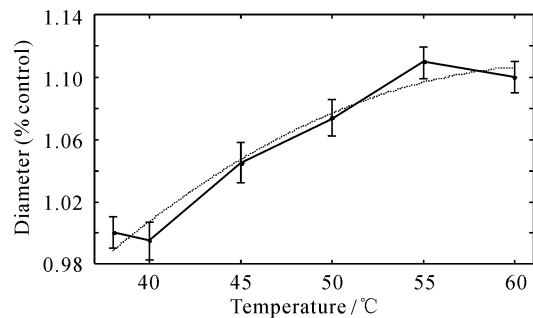


图 6 血管直径随温度的变化  
Fig. 6 Diameter of blood vessels under different temperatures

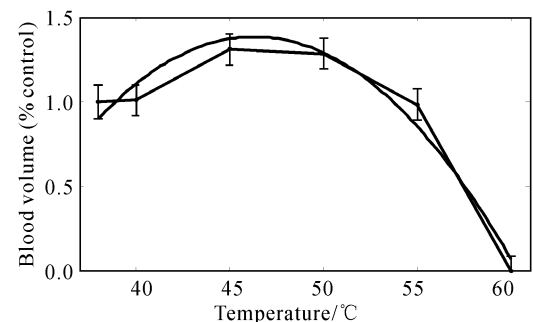


图 7 不同温度下血液灌注率的变化  
Fig. 7 Change of blood perfusion under different temperatures

本研究中一定温度条件下血流速度与管径相对恒定,因此,该方法是适用的,但对于局部微循环施加某种处理因素时,血管管径和速度在数秒内发生很大变化的情形则不适用。

## 5 结论

从前述模型实验结果可知,本研究建立的系统可用于实时监测散射介质的流速。利用该系统对不同温度下大鼠肠系膜上血流速度的变化进行监测,

得到不同温度下血流速度的变化量。这些变化远大于系统的测量误差。因而,该系统可用来监测不同温度下的血流变化。根据血流速度的变化和利用 CCD 成像技术获得的血管直径的变化,可获得血液灌注率的变化。结果表明肠系膜上血液灌注率首先随温升而增大,而后随温升而下降。这证明散斑测速系统结合 CCD 成像技术可用来测量血液灌注率的变化。

在今后的研究中,我们将对热作用或药物等作用下血液灌注率的变化进行分析,并与用传统血液灌注率的方法获得的结果进行对比,为测量血液灌注率的变化提供一种新的方法。该研究对临床热疗剂量的理论研究将是非常重要的。

**致谢** 衷心感谢梁文锡、岑建、张婷对本课题的帮助。

#### 参 考 文 献

- B. W. Raaymakers, J. Crezee, J. J. W Lagendijk. Comparison of temperature distributions in interstitial hyperthermia; experiments in bovine tongues versus generic simulations [J]. *Phys. Med. Biol.*, 1998, **43**: 1199~1214
- A. J. Welch, M. J. C. van Germert. Optical-thermal Response of Laser-irradiated Tissue [M]. New York & London: Plenum Press, 1995. 476~479
- Liu J., Xu L. X.. Estimation of blood perfusion using phase shift in temperature response to sinusoidal heating at the skin surface [J]. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 1999, **46**:1037~1043
- Liu J., Wang Chuncheng. Heat Transfer in Biologic Tissue [M]. Beijing: Science Press, 1997. 12~23 (in Chinese)
- Dao Guohao, J. P. Gertler, R. D. Kamm. The effects of external compression on venous Blood flow and tissue deformation in the lower LEg [J]. *ASME: Journal of Biomechanical Engineering*, 1999, **121**(6):557~564
- K. Giering, O. Minet, I. Lamprecht *et al.*. Review of thermal properties of biological tissues [M]. in "Laser-induced Interstitial Thermotherapy", Edited by G. Müller, A. Roggan, Washington: SPIE Optical Engineering Press, 1995. 45~65
- V. V. Tuchin, Y. N. Scherbakov, A. N. Yakunin *et al.*. Numerical technique for modeling of laser-induced hyperthermia [M]. in "Laser-induced Interstitial Thermotherapy", Edited by G. Müller, A. Roggan, Washington: SPIE Optical Engineering Press, 1995. 100~113
- E. J. Droog, W. Steenbergen, F. Sjöbeng *et al.*. Measurement of depth of burns by laser Doppler perfusion imaging [J]. *J. Investigative Dermatology*, 2001, **27**:561~568
- K. D. Andrew, B. Hayrunnisa, A. M. Michael *et al.*. Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle [J]. *J. Cereb Blood Flow Metab*, 2001, **21**(3): 195~201
- S. Komatsu, I. Yamaguchi, H. Saito. Velocity measurement of diffuse objects by using speckle dynamics [J]. *Jpn. J. Appl. Phys.*, 1976, **15**(9): 1715~1724
- N. Takai, T. Iwai, T. Ushizaka *et al.*. Velocity measurement of the diffuse object based on time-differentiated speckle intensity fluctuations [J]. *Opt. Comm.*, 1979, **30**(3):287~292
- N. Takai, T. Iwai, T. Asakura. Real-time velocity measurement for a diffuse object using zero-crossings of laser speckle [J]. *J. Opt. Soc. Am.*, 1980, **70**(4):450~455
- Qi Kangnan, Qin Kecheng, Cheng Lu. The Introduction of Statistic Optics [M]. Tianjing: Nankai University Press, 1987. 40~42 (in Chinese)
- P. Starukhin, S. Ulyanov, E. Galanzha *et al.*. Blood-flow measurements with a small number of scattering events [J]. *Appl. Opt.*, 2000, **39**(16):2823~2830
- J. D. Briers, S. Webster. Laser speckle contrast analysis (LASCA): a non-scanning, full-field technique for monitoring capillary blood flow [J]. *J. Biomed. Opt.*, 1996, **1**(2):174~179
- J. D. Briers, G. Richards, X. W. He. Capillary blood flow monitoring using laser speckle contrast analysis (LASCA) [J]. *J. Biomed. Opt.*, 1999, **4**(1):164~175