

文章编号: 0258-7025(2008)05-0792-05

# 热作用致心肌组织在可见与近红外范围内的 光学特性变化

敖荟兰<sup>1</sup> 邢达<sup>1</sup> 魏华江<sup>1</sup> 巫国勇<sup>2</sup> 鲁建军<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 华南师范大学激光生命科学研究所以激光生命科学教育部重点实验室, 广东 广州 510631)  
<sup>2</sup> 中山大学第一附属医院心胸外科, 广东 广州 510080)

**摘要** 研究了热作用对心肌组织在可见及近红外光谱范围内的光学特性改变。利用带积分球附件的分光光度计测量了心肌组织样品的漫反射率和总透射率,再用反向倍增(IAD)法从这两测量值中获取组织的吸收系数、约化散射系数和光学穿透深度。结果表明,自然的及热处理后的心肌组织的吸收系数、约化散射系数和光学穿透深度都是随着辐照波长的变化而显著变化的。自然的及热凝固后(80 ℃热处理)的心肌组织的吸收系数均在550 nm附近有一正峰,峰值分别为 $0.74 \text{ mm}^{-1}$ 和 $1.16 \text{ mm}^{-1}$ 。自然的心肌组织的约化散射系数在550 nm附近出现一正峰,峰值为 $0.25 \text{ mm}^{-1}$ ;高温处理后此峰消失,而在590~625 nm出现上升坡。低温热处理对心肌组织的吸收系数没有明显的影响,高温热处理后心肌组织的吸收系数增大;心肌组织的约化散射系数随热处理的温度上升而显著地升高;心肌组织的光学穿透深度随热处理的温度上升而显著地减小。

**关键词** 医用光学与生物技术;组织光学;积分球;光学特性;心肌组织;热作用;反向倍增法

**中图分类号** R 318.51 **文献标识码** A

## Changes in Optical Properties of *in vitro* Myocardium Tissue Due to Heating in the Visible and Near-Infrared Range

Ao Huilan<sup>1</sup> Xing Da<sup>1</sup> Wei Huajiang<sup>1</sup> Wu Guoyong<sup>2</sup> Lu Jianjun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>MOE Key Laboratory of Laser Life Science and Institute of Laser Life Science,  
South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510631, China

<sup>2</sup>Department of Surgery,

First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou, Guangdong 510080, China

**Abstract** The effects of optical properties of myocardium tissue due to heating in the visible and near-infrared spectral range were investigated. A spectrophotometer was used to measure the diffuse reflectance and total transmittance of the tissue samples, and the inverse adding-doubling (IAD) method was applied to assess the absorption coefficients, the reduced scattering coefficients and the optical penetration depth of tissue from the measurements. The results of measurement show that the absorption and reduced scattering coefficients and optical penetration depths of myocardium tissues vary with the change of irradiation wavelength. There are a positive peaks at 550 nm for the absorption coefficients of both native and thermocoagulated (treated with 80 ℃) myocardium, and the peak values for native and thermocoagulated myocardium are  $0.74 \text{ mm}^{-1}$  and  $1.16 \text{ mm}^{-1}$ , respectively. There is a positive peak at 550 nm for the reduced scattering coefficients of native myocardium and the peak value is  $0.25 \text{ mm}^{-1}$ , whereas the peak disappears after myocardium tissue treated with high temperature. Further more a new increase appears at the wavelength range of 590~625 nm. The absorption coefficient of myocardium tissue is not significantly changed by treating with lower temperature but increases slightly with higher temperature. The reduced scattering coefficient of myocardium tissue is significantly increasing with the increase of treating

收稿日期:2007-09-13;收到修改稿日期:2007-11-06

基金项目:国家自然科学基金(30470494,30627003,60678050)和广东省自然科学基金(015012)资助项目。

作者简介:敖荟兰(1981—),女,江西人,硕士研究生,主要从事组织光学方面的研究。E-mail:aohl@sclu.edu.cn

导师简介:邢达(1957—),男,吉林人,教授,博士生导师,主要从事光学及信息光电子技术在生命科学中的应用方面的研究。E-mail: xingda@sclu.edu.cn (通信作者)

temperature. And the optical penetration depth of myocardium tissue is significantly decreasing with the decrease of treating temperature.

**Key words** medical optics and biotechnology; tissue optics; integrating-sphere; optical properties; myocardium tissue; slowly heated; inverse-adding-double method

## 1 引言

激光心肌血运重建术(transmyocardial laser revascularization, TMLR)是利用激光光束在缺血的心肌区域打一些与心室相通的微小的孔道,来改善缺血心肌的血供从而挽救部分缺血心肌,与常规的治疗相比手术创伤小、术后恢复快,对新的缺血区可重新使用<sup>[1~4]</sup>。在心肌打孔过程中,可见和近红外激光对心肌组织的作用主要是通过光热效应,使局部心肌组织产生高温、凝固、气化、融合及选择性光热分解,形成一定深度孔道。大多数激光在心肌组织上打孔时,都会导致激光孔道周围一定范围内的组织和血管脱水、收缩和凝固,形成热损伤层<sup>[5,6]</sup>。由于组织的组分和结构发生了一定的变化,其光学特性参数会明显改变<sup>[7~11]</sup>。光学特性参数的变化进而影响激光能量在组织中的分布,因为光在组织中的传输与组织的光学特性密切相关<sup>[12]</sup>。罗乐等<sup>[13]</sup>的研究表明选择吸收系数大、各项异性系数大而散射系数小(即约化散射系数小)的光源,可以有效地抑制光子向周围组织传输,从而减小热损伤范围。魏华江等<sup>[8]</sup>的研究表明热凝固后人良性前列腺增生组织的穿透深度降低,人肝肿瘤和正常肝的光衰减都分别显著地增大<sup>[11]</sup>。Dan Zhu等<sup>[9]</sup>对热作用下蛋白及全血光学特性的实验研究显示,不同剂量的热作用下,样品的光学特性参数变化也不同;相同热作用下,由于样品成分的不同,也导致样品光学特性参数的改变存在一定的差别。John W. Pickering等<sup>[14]</sup>研究了632.8 nm波长的变化规律。本文研究了450~1100 nm区域内热作用下心肌组织光学特性的变化,对医用激光设备的开发及激光手术时激光参数的选择有一定的应用和参考价值。

## 2 实验

### 2.1 样品准备

新鲜的猪心脏组织样品取自合格屠宰场,组织取下后尽快拿到实验室用生理盐水冲洗净表面残留血渍,切成18 mm×20 mm的矩形后,用冰冻切片机切成0.5 mm厚的薄片。切片后的样品立即平展于载玻片的中心,向样品中滴入少许生理盐水再用盖玻片小心盖上,确保玻璃与组织间不产生气泡,玻片

表面晾干后,用明胶在载玻片与盖玻片接触的边缘涂上一薄层封固。一共制备36个样品,其中6个留作对照组,其余分为5组,各组分别放入试管密封后插入电热恒温水浴槽中在43℃,50℃,60℃,70℃,80℃下加热10 min。准备好的样品用密实袋封装并放回冰箱,-20℃下保存,只在测量时取出。所用的盖玻片和载玻片的厚度分别为0.15 mm和1.2 mm,所有组织样品都在25℃的室温环境下进行光学特性的测量,样品准备和测量过程不超过12 h。

### 2.2 漫反射率、总透射率和准直透射的测量

实验用紫外可见分光光度计(UV win Lab35, PE, USA)测量样品的漫反射谱、总透射谱及准直透射谱。Lab35分光光度计配置有一单积分球系统附件,球内径为50 mm,入射及出射光孔的直径均为12 mm。实验所用光源为卤灯,光束经过2 nm宽狭缝限制后入射到组织样品上的光斑尺寸为1 mm×7.5 mm(宽×高)。扫描间隔5 nm,扫描速度240 nm/min。

漫反射率的测量是先出光孔处放置标准板,扫描标准板的反射光强作为本底,再用组织样品取代标准板,扫描组织样品的反射光强,光度计利用内部程序自动求得样品的漫反射率且输出并保存到电脑。组织样品用楔形夹夹住,当样品夹紧贴积分球的入射光孔时,样品前的楔形板能保证样品表面法线与入射光轴成8°夹角。

总透射的测量与漫反射类似,先在积分球的入射光孔处放置一载玻片,在出射光孔处放置漫反射标准板扫描入射光强作为本底,再将制备好的组织样品取代载玻片(此时标准板仍置于积分球的出射光孔处),扫描样品的透射光强并由光度计自动求得样品的漫反射率且输出并保存到电脑。

测量准直透射时,卸去积分球附件,装上固体样品夹,并在样品前后分别放置一光阑限制散射光进入光电倍增管的入射窗。准直透射率由光度计自动求算并保存到电脑。

### 2.3 数据处理与统计学处理方法

确定了样品的漫反射、总透射及准直透射,利用反向倍增(IAD)法<sup>[15]</sup>即可获得组织样品的反照率 $\alpha$ ,光学深度 $\tau$ 及各向异性因子 $g$

$$\alpha = u_s / (u_s + u_a), \quad \tau = d(u_s + u_a), \quad (1)$$

式中  $u_s$  为散射系数,  $u_a$  为吸收系数<sup>[11]</sup>。由(1)式可得

$$u_s = \alpha \tau / d, \quad u_a = \tau(1 - \alpha) / d, \quad (2)$$

采用约化的散射系数  $u'_s = u_s(1 - g)$  表示生物组织的散射特性<sup>[8]</sup>。

组织光学参数以均数和标准差( $X \pm SD$ )表示,采用  $t$  检验,  $p < 0.05$  为有显著性差异,利用统计软件 SPSS10 作统计处理。

### 3 结果与分析

实验测得 450~1100 nm 波长光辐照心肌组织样品的漫反射率、总透射率和准直射率,对于每个

样品改变组织被光辐照的位置重复操作 3 次,各组样品的测量数据均有很好的重复性。这些值与玻璃的折射率 1.55,组织的折射率 1.4 及样品的物理厚度,经反向倍增法程序运算及一定的换算确定  $u_a$  及  $u'_s$ 。

图 1(a)和(b)分别给出了自然状态下以及经过不同温度水浴热处理后的猪心肌组织的漫反射谱和总透射谱,(c)和(d)分别为相应的吸收系数和约化散射系数。从图中可见,心肌组织的漫反射和总透射均随波长的变化而变化,相应的吸收系数和约化散射系数也是如此。

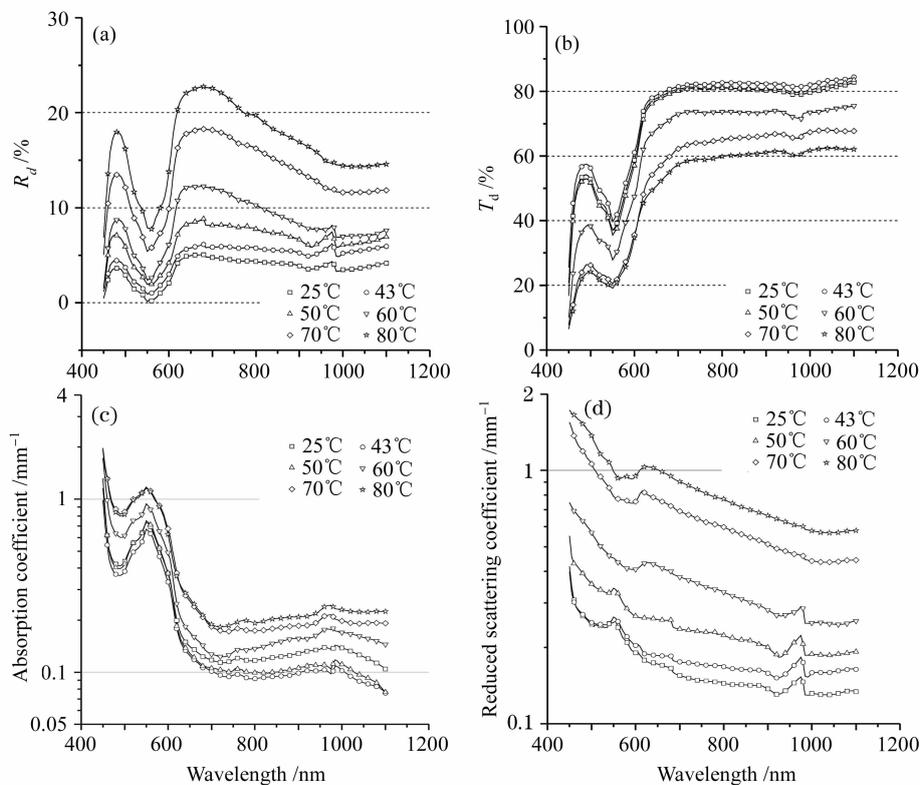


图 1 不同温度热作用后心肌组织的漫反射比  $R_d$  (a), 漫透射比  $T_d$  (b), 吸收系数(c)和约化散射系数(d)随波长的变化关系  
 Fig. 1 Diffuse reflectance  $R_d$  (a), transmittance  $T_d$  (b), absorption coefficient (c), and reduced scattering coefficient (d) of myocardium tissue with different exposure temperatures over the wavelength range of 450~1100 nm

#### 3.1 热作用致组织的漫反射和总透射的变化

心肌组织的漫反射和总透射均随波长的变化而变化,且在 450~680 nm 波长范围内随波长改变变化较大,而在 680~1100 nm 波长范围内随波长改变变化较小。自然状态下的心肌组织的漫反射自 450 nm (0.468%) 开始上升,在 480 nm 附近达到极大值 (3.622%) 转而下降,直至 550 nm 附近达到极小值 (0.14%), 然后上升,直到 680 nm (5.06%), 在 700~1100 nm 范围内除 970 nm 附近外呈现相对稳

定状态,其平均值为 4.04%。水浴热处理后心肌组织的漫反射谱变化规律与自然状态的相似,但是在所研究的波长范围内随水浴温度的上升而显著增高。经 80 °C 的水浴处理后,心肌的漫射率在 480 nm 和 680 nm 处分别上升到 17.99% 和 22.75%。

自然状态下的心肌组织的总透射自 450 nm (20.70%) 开始上升,在 490 nm 附近达到极大值 (53.36%) 转而下降,直至 550 nm 附近达到极小值 (37.10%), 然后上升,直到 680 nm (79.76%), 在

700~1100 nm范围内除970 nm附近外呈现相对稳定状态,其平均值为80.63%。水浴热处理后心肌组织的总透射谱变化规律与自然状态的相似,低温水浴处理对总透射谱没有显著的改变( $p > 0.05$ ),高温(60 ℃以上)水浴处理显著降低了总透射率( $p < 0.05$ )。经80 ℃水浴处理后,心肌的总透射率在480 nm和680 nm处分别下降到21.90%和54.91%。

### 3.2 热作用致组织的吸收系数和约化散射系数的变化

自然及水浴热处理后的心肌组织吸收系数随波长的变化而明显变化,且在450~680 nm波长范围内随波长的改变变化较大,而在700~1100 nm波长范围内随波长的改变变化较小。自然状态下心肌组织的吸收系数谱在550 nm附近有一峰,峰值为 $0.74 \text{ mm}^{-1}$ 。在相对稳定的700~1100 nm区域的平均值为 $0.12 \text{ mm}^{-1}$ 。低温水浴热处理对心肌组织的吸收系数没有显著改变( $p > 0.05$ ),高温(60 ℃以上)热处理后的心肌组织的吸收系数显著地较自然的大( $p < 0.05$ )。组织的吸收主要是由组织内各种色素,如血红蛋白、胆红素和黑色素等决定<sup>[16,17]</sup>。心肌中血管分布丰富,血液含量较大,可见光区,心肌组织对光的吸收主要是由于血液中血红蛋白对光的吸收,图1(c)中550 nm附近的峰就是血红蛋白的

贡献。心肌组织中水的含量也很大,因此在970 nm处观察到一个小的吸收峰。热凝固后心肌组织的吸收系数显著地较自然的大,这可能是由于热处理过程中组织脱水、细胞收缩,而组织中的发色团的总数量保持不变导致的。

自然及热处理后的心肌组织约化散射系数均随波长的变化而明显变化。自然心肌组织的约化散射系数谱在550 nm附近和975 nm附近分别出现峰,峰值为 $0.25 \text{ mm}^{-1}$ 和 $0.15 \text{ mm}^{-1}$ ,当热作用温度达50 ℃,550 nm附近的峰变得不明显,而在590~625 nm处出现上升坡;温度达到60 ℃,975 nm附近的峰也不明显。除以上各波长附近外,自然及热处理后的心肌组织的约化散射系数均随波长的增大而下降。经高温(60 ℃以上)热处理后的心肌组织的约化散射系数显著地较自然心肌组织的约化散射系数要大得多( $p < 0.01$ ),这表明心肌组织热处理后组织组分和结构都发生了明显的变化。Saskia Bosman<sup>[18]</sup>用透射电镜观察热处理后的心肌,发现当温度达到50 ℃时肌丝的有序排列被打乱;60 ℃时大量的线粒体内出现小颗粒,肌丝开始断裂;75 ℃时肌丝分解为小颗粒,线粒体内的小颗粒聚集为较大的颗粒。

表1 不同温度下心肌组织在特定波长处的光穿透深度

Table 1 Mean and standard deviation of the optical penetration depths of myocardium tissue with different exposure temperatures at selected wavelength

$\lambda / \text{nm}$	Optical penetration depth / mm					
	25 ℃	43 ℃	50 ℃	60 ℃	70 ℃	80 ℃
1100	3.67±0.15	4.29±0.19	4.03±0.21	2.40±0.14	1.66±0.10	1.36±0.13
1065	3.36±0.14	3.99±0.13	3.62±0.16	2.31±0.12	1.65±0.13	1.37±0.10
900	3.13±0.12	3.63±0.14	3.21±0.11	2.21±0.12	1.61±0.09	1.35±0.08
680	3.07±0.14	3.29±0.12	2.91±0.13	2.07±0.10	1.31±0.09	1.16±0.07
630	2.44±0.12	2.61±0.13	2.30±0.11	1.61±0.12	0.99±0.08	0.89±0.09
550	0.68±0.09	0.73±0.07	0.64±0.08	0.50±0.07	0.38±0.05	0.37±0.07
490	1.10±0.12	1.22±0.14	1.05±0.12	0.68±0.10	0.46±0.08	0.43±0.09
450	0.43±0.10	0.49±0.08	0.37±0.08	0.28±0.07	0.22±0.06	0.21±0.07

### 3.3 热作用致组织的光学穿透深度的变化

光对组织的穿透深度是吸收系数和约化散射系数的联合 $\delta = 1 / \sqrt{3u_a(u_a + u'_s)}$ ,它表示光衰减到入射光强的 $1/e$ 时的深度,在肿瘤激光治疗中有非常重要的意义。穿透深度是影响激光能量在半径方向上分布区域的重要参数<sup>[19]</sup>,成为激光诱导间质疗法和激光手术的一个关键因素。高温(60 ℃以上)热处理后的心肌组织的光学穿透深度显著地较自然的心肌组织的光学穿透深度要小得多( $p < 0.01$ ),

见表1。经60 ℃,70 ℃和80 ℃热处理后心肌组织对490 nm波长光的穿透深度从自然状态下的1.10 mm分别下降到0.68 mm,0.46 mm和0.43 mm;对550 nm波长光的穿透深度自0.68 mm分别下降到0.50 mm,0.38 mm和0.37 mm;对630 nm波长光的穿透深度自2.44 mm分别下降到1.61 mm,0.99 mm和0.89 mm;对1065 nm波长光的穿透深度自3.36 mm分别下降到2.31 mm,1.65 mm和1.37 mm。尽管高温热处理显著地降低

了心肌组织的穿透深度,然而它们仍有相似的变化趋势。

## 4 结 论

心肌组织受一定的热作用后,组织的组分和结构都发生了显著的变化,导致吸收系数增大,约化散射系数显著地增大,进而导致光学穿透深度显著地减小。生物组织受热会导致其光学特性的改变,在激光治疗过程中,必须考虑其光学特性的变化才能正确地选择激光参数,准确地把激光能量输送到治疗部位,同时将周围组织的损伤减至最少。

## 参 考 文 献

- 1 Qu Zheng, Zhang Zhaoguang, Sun Yanqin *et al.*. Clinical experience of transmyocardial laser revascularization treating coronary artery disease [J]. *Chin. J. Thorac Cardiovasc Surg.*, 1999, **15**(5):266~268  
屈 正,张兆光,孙衍庆等. 激光心肌血运重建术治疗冠心病的临床体会[J]. 中华胸心血管外科杂志, 1999, **15**(5):266~268
- 2 Qu Zheng, Zhang Zhaoguang, Sun Yanqin *et al.*. Clinical results of transmyocardial laser revascularization for 77 patients with coronary artery disease [J]. *Chin. J. Surg.*, 2000, **38**(9):665~669  
屈 正,张兆光,孙衍庆等. 激光心肌血运重建术疗效分析[J]. 中华外科杂志, 2000, **38**(9):665~669
- 3 Manuel Galíñanes. New prospects in myocardial surgical revascularization [J]. *Rev. Esp. Cardiol.*, 2005, **58**(12):1459~1468
- 4 J. Schneider, A. Diegeler, R. T. Walther Krakor *et al.*. Transmyocardial laser revascularization with the holmium:YAG laser: loss of symptomatic improvement after 2 years [J]. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*, 2001, **19**(2):164~169
- 5 Luo Le, Wang Gangzhi, He Yujiang *et al.*. Laser myocardial revascularization—study on thermal injury of punching myocardium with laser [J]. *Laser Journal*, 1999, **20**(6):67~68  
罗 乐,王刚志,何于江等. 激光心肌血管重建术[J]. 激光杂志, 1999, **20**(6):67~68
- 6 Shang Jianfeng, Qu Zheng, Zhang Huixin *et al.*. Experimental study on channels injury and repair of myocardium after transmyocardial laser revascularization [J]. *Chin. J. Laser Med. Surg.*, 2002, **11**(1):15~19  
商建峰,屈 正,张慧信等. 激光心肌孔道损伤与修复的实验研究[J]. 中国激光医学杂志, 2002, **11**(1):15~19
- 7 Inci F. Qilesiz, Ashley J. Welch. Light dosimetry: effects of dehydration and thermal damage on the optical properties of the human aorta [J]. *Appl. Opt.*, 1993, **32**(4):477~487
- 8 Wei Huajiang, Xing Da, He Bohua *et al.*. Thermal changes on optical properties in human benign prostatic hyperplasia tissue [J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(7):1249~1254  
魏华江,邢 达,何博华等. 热作用致良性前列腺增生组织的特性变化[J]. 光学学报, 2007, **27**(7):1249~1254
- 9 Dan Zhu, Qingming Luo, Jian Cen. Effects of dehydration on the optical properties of *in vitro* porcine liver [J]. *Lasers Surg. Med.*, 2003, **33**:226~231
- 10 Chen Rong, Zeng Haishan, Huang Baohua *et al.*. Fluorescent spectrum of skin with trichrome vitiligo [J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(1):124~128  
陈 荣,曾海山,黄宝华等. 具有三种颜色的白癜风皮肤的荧光光谱[J]. 光学学报, 2007, **27**(1):124~128
- 11 Wei Huajiang, Guo Zhouyi, Xie Shusen *et al.*. Comparison of light attenuation characteristics and optical penetration depths between native and coagulated human liver tissues [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2006, **26**(9):1757~1760  
魏华江,郭周义,谢树森等. 热凝固致人肝组织光衰减和光穿透深度的变化[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, **26**(9):1757~1760
- 12 Lihong Wang, Steven L. Jacques, Liqiong Zheng. MCML—Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues [J]. *Comp. Meth. Prog. Biomed.*, 1995, **47**:131~146
- 13 Luo Le, Jiang Jieqiong, Zhang Ting *et al.*. Study on regularity of laser myocardium interaction according to diffusion approximation [J]. *Chinese Journal of Quantum Electronics*, 2004, **21**(5):650~652  
罗 乐,蒋洁琼,张 霆等. 激光与心肌组织相互作用规律的漫射近似研究[J]. 量子电子学报, 2004, **21**(5):650~652
- 14 John W. Pickering, Saskia Bosman, Paul Posthumus *et al.*. Changes in the optical properties (at 632.8 nm) of slowly heated myocardium [J]. *Appl. Opt.*, 1993, **32**(4):367~371
- 15 Scott A. Prahl, Martin J. C. van Gemert, Ashley J. Welch. Determining the optical properties of turbid media by using the adding-doubling method [J]. *Appl. Opt.*, 1993, **32**(4):559~568
- 16 Huang Baohua, Chen Rong, Zeng Haishan *et al.*. The impact of blood content in skin tissue on skin spectra [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2007, **27**(1):95~98  
黄宝华,陈 荣,曾海山等. 皮肤组织血液含量对皮肤光谱的影响[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, **27**(1):95~98
- 17 Hongqin Yang, Shusen Xie, Hui Li *et al.*. Determination of human skin optical properties *in vivo* from reflectance spectroscopic measurements [J]. *Chin. Opt. Lett.*, 2007, **5**(3):181~183
- 18 Saskia Bosman. Heat-induced structural alterations in myocardium in relation to changing optical properties [J]. *Appl. Opt.*, 1993, **32**(4):461~463
- 19 Jiang Shichen, Zhang Xuexue. Energy distribution analysis of laser transport in biological tissue for laser-induced interstitial thermotherapy [J]. *Chinese J. Lasers*, 2005, **32**(4):581~584  
江世臣,张学学. 激光诱导间质肿瘤热疗中激光能量在生物组织内传输规律的分析[J]. 中国激光, 2005, **32**(4):581~584