

基于光声相关谱法的血液流速测量

潘柳华^{1,2}, 张向阳³, 李中梁^{1,2}, 南楠¹, 步扬^{1,2}, 陈艳^{1,2}, 王瑄^{1,2}, 王向朝^{1,2*}

¹中国科学院上海光学精密机械研究所信息光学与光电技术实验室, 上海 201800;

²中国科学院大学, 北京 100049;

³江南大学理学院, 江苏 无锡 214122

摘要 利用光声相关谱法对血液流速进行了测量, 并研究了激光重复频率以及血流方向与入射激光传播方向的夹角对血液流速测量准确性的影响。结果表明: 血流速度越快, 要求激光的重复频率越高; 当血流方向与入射激光的传播方向垂直时, 系统可以测量的血液流速范围为 0.059~92.3 mm/s, 测量值与真实值的相关系数为 0.992; 当血流方向与入射激光的传播方向不垂直时, 测得的血液流速和实际血液流速的比值与样品倾斜角度成余弦关系。

关键词 医用光学; 光声成像; 光声相关谱; 流速测量

中图分类号 TN247

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201845.1107001

Measuring Velocity of Blood Flow Based on Photoacoustic Correlation Spectroscopy

Pan Liuhua^{1,2}, Zhang Xiangyang³, Li Zhongliang^{1,2}, Nan Nan¹, Bu Yang^{1,2},
Chen Yan^{1,2}, Wang Xuan^{1,2}, Wang Xiangzhao^{1,2*}

¹Laboratory of Information Optics and Optoelectronic Technology, Shanghai Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China;

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

³School of Science, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China

Abstract Velocity of blood flow is measured by photoacoustic correlation spectroscopy. The effects of the laser repetition frequency and the angle between the blood flow direction and incidence laser propagation direction on the measurement of velocity of blood flow are studied. Research results show that the faster the blood flow velocity, the higher the laser repetition frequency required. When the blood flow orientation is perpendicular to the direction of incident laser propagation direction, the range of velocity of blood flow that the system can measure is 0.059-92.3 mm/s. The correlation coefficient between the measured flow velocities and the actual flow velocities is 0.992. When the blood flow orientation is not perpendicular to the direction of incident laser propagation direction, the ratios of the measured velocities of blood flow to the original ones are cosine to the tilted angle of sample.

Key words medical optics; photoacoustic imaging; photoacoustic correlation spectroscopy; flow velocity measurement

OCIS codes 170.3880; 170.5120; 170.6280

1 引言

血液的主要功能之一是输送营养物质, 其流动速度与机体的新陈代谢、心率以及不同器官类型密切相关。当人体出现疾病或组织循环障碍时, 血液

的正常流动或组织灌注就会发生变化, 因此通过监测血液流速的变化可以探查组织器官的病变及受伤害等情况, 这对血管痉挛、贫血等疾病的治疗和病理研究具有重要意义^[1-2]。

目前, 测量血液流速的方法主要有多普勒光学

收稿日期: 2018-04-16; 修回日期: 2018-06-10; 录用日期: 2018-06-15
基金项目: 上海市科学技术委员会创新行动计划(15441905600)、广西高校光电信息处理重点实验室开放基金(KFJJ2016-04)
* E-mail: waz26267@siom.ac.cn

相干层析成像(DOCT)^[3]、超声成像(US)^[4]、激光散斑成像(LSI)^[5]、扩散相关谱(DCS)^[6]、正电子发射型计算机断层成像(PET)^[7]、核磁共振(MRI)^[8]、计算机断层扫描(CT)^[9]等。DOCT 通过多普勒效应来测量血液流速,主要方式有相位解析 DOCT^[10]、多普勒微血管造影^[11]等,但只能测量出血液沿入射光束传播方向的运动速度,若要计算血液的绝对运动速度则需要预先知道多普勒角^[12]。有研究者在 DOCT 中利用多光束探测多普勒频移,该方法虽然可以在多普勒角未知的情况下测量血液的绝对流速,但实验装置复杂,需要调整硬件,并进行光学对准^[13-14]。US 常用于无损伤的血流测量,但该方法易受杂波的影响,分辨率较低^[15]。LSI 利用样品的漫反射光随时间的变化来测量血液流速,可实时成像,但仅限于对样品的浅表层成像^[16]。DCS 拥有高的空间分辨率和较好的成像深度,但需要考虑光学探头对样品的压迫作用^[17]。PET 是研究脑血液动力学的标准技术之一,需要注入放射性示踪剂^[18]。MRI 设备昂贵。CT 依赖于电离辐射,对人体有一定的伤害。

光声显微成像(PAM)是一种基于探测激光诱导超声波的成像方法,具有高光学对比度、高分辨率等优点^[19]。近年来,利用光声效应对血液流速进行测量的研究受到了广泛关注,主要有多普勒法^[20]、密度追踪法^[21]、渡越时间法^[22]、振幅编码法^[23]等。光声相关谱法(PACS)是渡越时间法中的一种,它通过分析光声信号幅度的变化来测量血管中血液的流速^[24]。由于激光重复频率和采集卡的数据采集速率有限,目前的 PACS 能够测量的最大血液流速为 21 mm/s^[25]。人体内不同血管中的血液流速不同,如毛细血管中血液的平均流速约为 1 mm/s,而小动脉中血液的平均流速约为 50 mm/s^[26]。若利用 PACS 监测人体小动脉中血液流速的变化情况,则需要扩大 PACS 能够测量的血液流速范围。同时,目前的 PACS 方法没有考虑血液流动方向与入射激光传播方向的夹角对血液流速测量的影响,这会给血液流速的测量带来误差。

本文利用 PACS 测量了模拟血管样品中去纤维新生牛血的流速。通过提高激光的重复频率,增大了 PACS 能够测量的血液流速的范围,分析了重复频率对血液流速测量的影响;此外,还分析了利用 PACS 方法测量血液流速过程中,血液流动方向与入射激光传播方向之间的夹角对血液流速测量的影响。

2 原 理

PACS 类似于荧光相关谱(FCS)技术,当血红细胞穿越激光照射区域时,血红细胞吸收脉冲激光的能量,并产生光声信号。利用超声换能器采集光声信号,可以得到光声信号强度 $P(t)$ 随时间的变化^[27],可表示为

$$P(t) \equiv \int I(r)n(r,t)d^3r, \quad (1)$$

式中: $I(r)$ 为激光光束的归一化空间能量分布; $n(r,t)$ 为 t 时刻在位置 r 处的粒子浓度。类似于 FCS 中荧光强度的变化, $P(t)$ 可以提供流动粒子发出的光声信号强度随时间的变化情况,通过 $P(t)$ 的归一化自相关函数 $G(\tau)$ 可以计算出血红细胞渡越激光照射区域的时间^[24]。 $G(\tau)$ 的表达式为

$$G(\tau) = \langle \delta P(t) \delta P(t+\tau) \rangle / \langle P(t) \rangle^2, \quad (2)$$

式中: τ 为滞后时间; $\delta P(t) = P(t) - \langle P(t) \rangle$,符号 $\langle \rangle$ 表示求平均。

聚焦的探测光束强度在垂直于传播方向上(x - y 面内)呈高斯分布,其光强可表示为

$$I(x,y,z) = I_0 \exp(-2x^2/r_0^2 - 2y^2/r_0^2 - 2z^2/z_0^2), \quad (3)$$

式中: I_0 为激光峰值强度; x 、 y 为探测光束的径向位置; z 为探测光束的轴向位置; r_0 和 z_0 分别为探测光束的径向半径和瑞利长度。在呈高斯分布的聚焦光束的照射下,归一化自相关函数 $G(\tau)$ 可以表示为

$$G(\tau) = \frac{1}{N} \times \frac{1}{1 + \tau/\tau_d} \sqrt{\frac{1}{1 + (r_0/z_0)^2 \tau/\tau_d}} \times \exp\left[-\left(\frac{\tau}{\tau_f}\right)^2 \times \frac{1}{1 + \tau/\tau_d}\right], \quad (4)$$

式中: $N=1/G(0)$, $G(0)$ 的大小与探测光束照射区域内的粒子浓度有关; τ_f 为血红细胞渡越一半探测光束照射区域所用的时间; $\tau_d = r_0^2/(8\kappa)$,其中 κ 为扩散系数。当血红细胞在血管中传输时, κ 值很小,故 $G(\tau)$ 又可以表示为

$$G(\tau) = 1/N \times \exp[-(\tau/\tau_f)^2]. \quad (5)$$

利用(5)式对 $P(t)$ 的归一化自相关数据进行拟合,就可以得到 τ_f 。当 r_0 已知时,血红细胞在探测光束照射区域内的流速为

$$v_f = r_0/\tau_f. \quad (6)$$

图 1 所示为血管穿过探测光束照射区域的示意图,其中探测光束的束腰直径为 R ,血管在探测光束照射区域内的长度为 L ,故 PACS 测得的血液流速可表示为

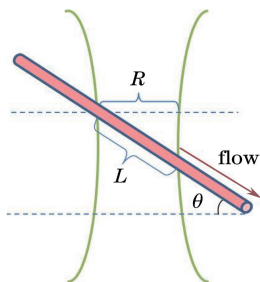


图 1 血管穿过探测光束照射区域示意图
Fig. 1 Schematic of vessel passing through the probe beam region

$$v_{\text{measured}} = \frac{R}{T} = \frac{R}{L/v_{\text{origin}}} = v_{\text{origin}} \cdot \frac{R}{L} = v_{\text{origin}} \cdot \cos \theta, \quad (7)$$

式中: T 为血红细胞穿过探测光束照射区域的实际时间; v_{origin} 为实际的血液流速; θ 为血流方向与垂直于入射激光传播方向之间的夹角。由(7)式可知,

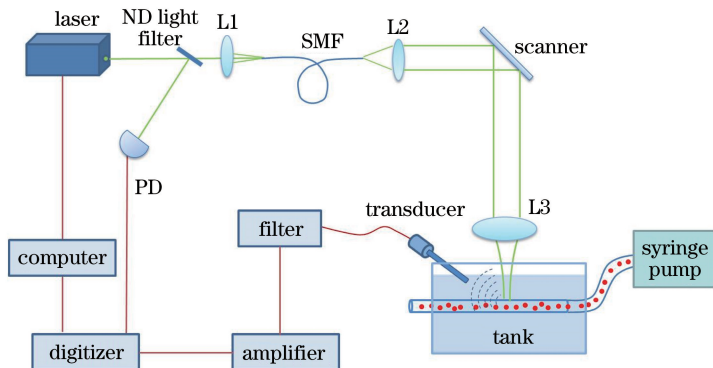


图 2 测量血液流速的光声实验系统示意图

Fig. 2 Schematic of the experimental system for measuring velocity of blood flow

系统光源为意大利 Bright Solutions 公司生产的 Wedge HF 532 脉冲激光器, 激光波长为 532 nm, 最大 Q 开关重复频率为 100 KHz; 透镜 L2 和透镜 L3 的焦距均为 30 mm。微管为石英玻璃管, 其内径为 200 μm , 外径为 300 μm 。注射泵为中国兰格实验室生产的 LSP01-1A 微量注射泵, 其最小线速度为 5 $\mu\text{m}/\text{min}$, 行程控制误差不大于 $\pm 0.5\%$ 。利用容量为 1 mL、内径为 4.6 mm 的注射器将血液样品注入微管中。所用超声换能器的中心频率为 35 MHz, 3 dB 带宽为 20 MHz; 滤波器为高通滤波器, 截止频率为 20 MHz; 信号采集设备为美国 Gage 公司生产的 Gage CSE 1622 数据采集卡, 采样率为 100 MSa/s。血液样品为去纤维新生牛血。

3.1 激光重复频率对血液流速测量的影响

利用 PACS 对已知流速的血液样品进行测量。

PACS 测得的结果是垂直于入射激光传播方向的血液流速。

3 实验与分析

对血液流速进行测量的光声实验系统示意图如图 2 所示。系统中光源发出的激光照射到中性密度 (ND) 滤光片上, 其中的透射光通过显微物镜 L1 耦合进单模光纤 (SMF), 而反射光被光电探测器 (PD) 接收, 作为信号采集系统的触发信号。通过 SMF 的激光先经透镜 L2 准直, 然后通过振镜后被透镜 L3 聚焦在流体样品上。流体样品由恒流泵注入至微管中, 样品被激光照射后产生光声信号, 信号被超声换能器接收。接收到的信号经过滤波、放大后由高速数据采集卡采集, 最后由计算机进行后续数据处理。实验中采用计算机控制激光的发射和光声信号的同步采集。

探测光束垂直向下入射, 模拟血管样品放置在一个水槽中, 血液流动方向与探测光束传播方向垂直。在激光重复频率为 10 kHz、血液流速为 2 mm/s 的条件下, 测量结果如图 3 所示。图 3(a) 所示为模拟血管中血液的光声图像, 取模拟血管的一个横截面, 并测量其中心点 (红十字) 位置处的血液流速。在获得连续的光声 A-line 信号后, 选取 A-line 信号强度的峰峰值作为 $P(t)$ 。图 3(b) 所示为归一化后的 $P(t)$ 信号; 图 3(c) 所示为 $P(t)$ 信号的自相关计算结果 (离散点)。利用 (5) 式进行拟合, 结果如红色曲线所示, 拟合的决定系数 R^2 为 0.982, 血红细胞渡越一半探测光束区域的时间为 2.692 ms。

在设定重复频率为 2 kHz 不变的条件下, 利用 PACS 方法分别对设定流速为 1, 2, 3, 4, 5, 6 mm/s 的血液的流速进行测量。图 4 所示为测量的自相关数据、拟合曲线、拟合的决定系数以及血红细胞的渡

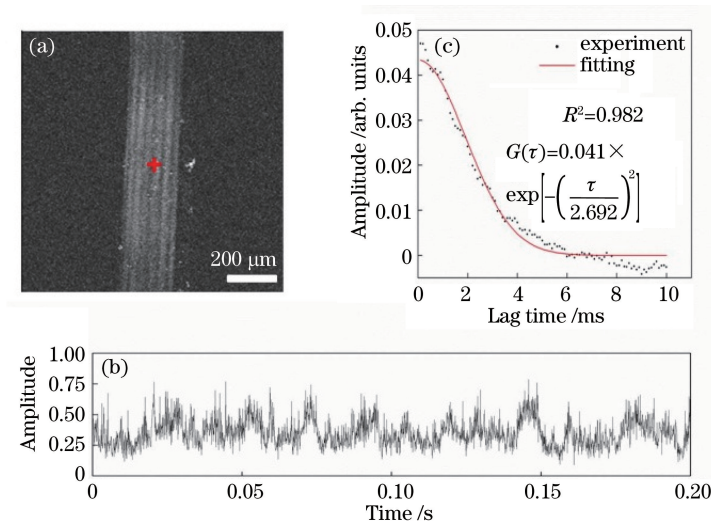


图 3 基于 PACS 方法的血液流速测量结果。(a)模拟血管中血液的图像；
(b)归一化的 $P(t)$ 信号；(c) $P(t)$ 自相关数据及拟合曲线

Fig. 3 Blood flow velocity measured by PACS method. (a) Photoacoustic image of blood flow phantom;
(b) normalized $P(t)$ signal; (c) calculated and fitted autocorrelation curves of $P(t)$

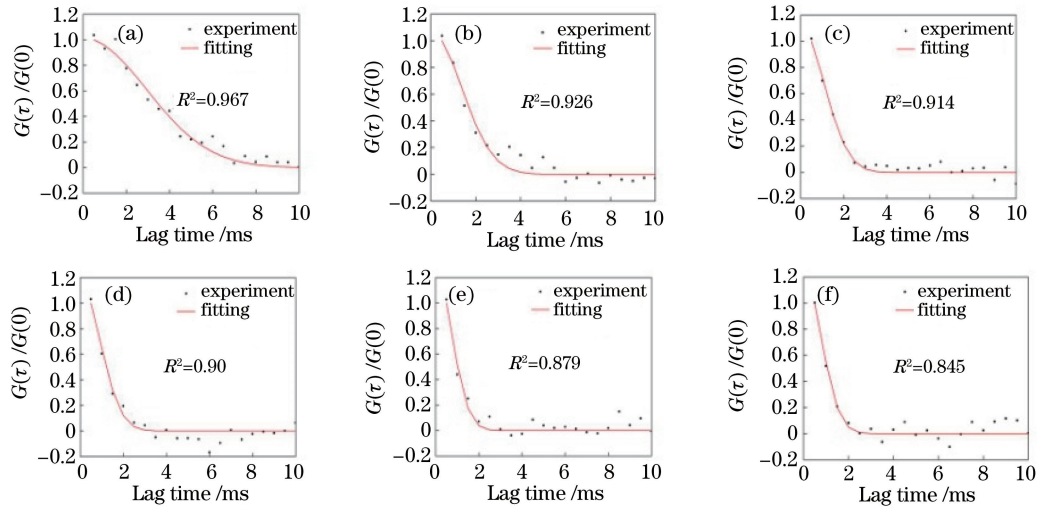


图 4 在重复频率为 2 kHz 及不同血液流速下测得的 $P(t)$ 的自相关数据及拟合曲线。
(a) 1 mm/s; (b) 2 mm/s; (c) 3 mm/s; (d) 4 mm/s; (e) 5 mm/s; (f) 6 mm/s

Fig. 4 Calculated autocorrelation data and fitted curves at repetition frequency of 2 kHz and different velocities of blood flow.
(a) 1 mm/s; (b) 2 mm/s; (c) 3 mm/s; (d) 4 mm/s; (e) 5 mm/s; (f) 6 mm/s

越时间 τ_f 。对于一次准确的拟合测量,拟合的决定系数应不小于 0.9。当设定流速为 1,2,3,4 mm/s 时,拟合的决定系数分别为 0.967、0.926、0.914、0.90, τ_f 分别为 5.16,2.43,1.8,1.33 ms。当设定流速为 5 mm/s 和 6 mm/s 时,拟合的决定系数分别为 0.879 和 0.845,小于 0.9; τ_f 分别为 1.34 ms 和 1.21 ms,未随着流速增大而相应地减小。当激光重复频率不变、血液流速增大时,系统采集到的有效数据减少;当血液流速过大时, τ_f 的拟合就会出现误差。

在设定血液流速为 2 mm/s 不变的条件下,当激光重复频率分别为 0.5,1,2,3,4,5 kHz 时,利用 PACS 方法对血液流速进行测量。图 5 所示为测量结果和相应的拟合曲线、决定系数以及渡越时间 τ_f 。对于相同的血液流速, τ_f 拟合出的结果应该一致。当激光重复频率分别为 1,2,3,4,5 kHz 时,拟合的决定系数分别为 0.91、0.926、0.949、0.942、0.973,均大于 0.9, τ_f 分别为 2.49,2.43,2.58,2.37,2.48 ms。但是当激光重复频率为 0.5 kHz 时,采集到的有效数据非常少,虽然数据拟合的决定系数为 0.95,但 τ_f

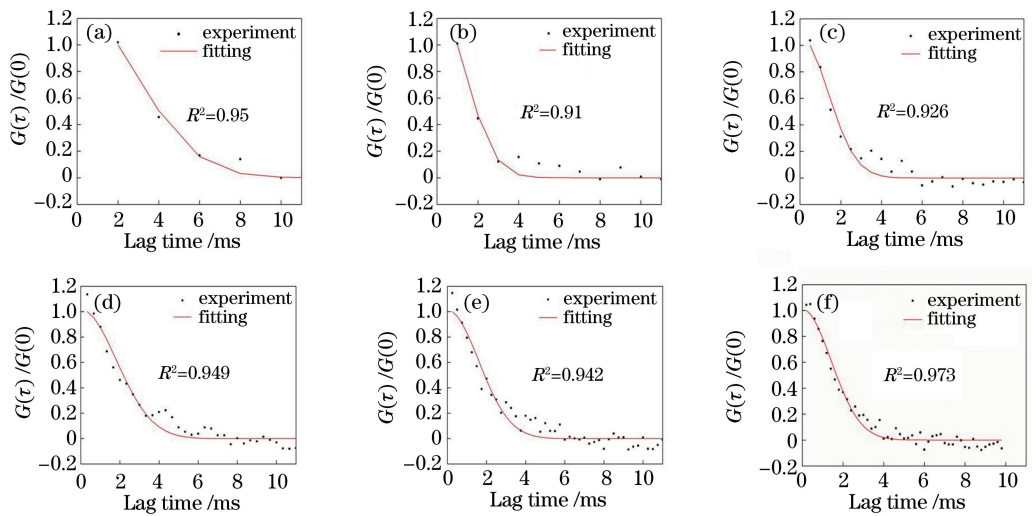


图 5 在 2 mm/s 血液流速及不同激光重复频率下测得的 $P(t)$ 的自相关数据及拟合曲线。

(a) 0.5 kHz; (b) 1 kHz; (c) 2 kHz; (d) 3 kHz; (e) 4 kHz; (f) 5 kHz

Fig. 5 Calculated autocorrelation data and fitted autocorrelation curves at velocity of blood flow of 2 mm/s and different laser repetition frequencies. (a) 0.5 kHz; (b) 1 kHz; (c) 2 kHz; (d) 3 kHz; (e) 4 kHz; (f) 5 kHz

为 5.2 ms, 与其他重复频率下测量的结果相比有很大误差。当血液的流速不变、激光重复频率过小时, 系统采集到的有效数据有限, 这会给 τ_f 的拟合带来误差。

实验结果表明, 在利用 PACS 方法测量血液流速时, 需要采集足够多的有效数据来确保数据拟合的准确性。血液流速越快, 所需要的激光重复频率越高。当需要测量小动脉中的血液流速时, 激光重复频率应大于 10 kHz。对于实验系统中的脉冲激光光源, 当重复频率大于 10 kHz 时, 单脉冲激光束的能量随重复频率的增大而减小, 无法产生信噪比较高的光声信号。因此, 当激光的重复频率大于 10 kHz 时, 为了产生具有较高信噪比的光声信号, 需要增大激光器的输出能量。当激光器工作在其最高重复频率 100 kHz 时, 通过增大输出能量也能产生信噪比较高的光声信号。

3.2 血液流速计算

为了计算血液流速, 需要获得不同已知流速的自相关数据, 并由此校准探测区域激光光束的有效半径。图 6(a) 所示为红细胞渡越时间 τ_f 随设定血液流速的变化。利用方程 $\tau_f = r_0 / v_f$ 对图 6(a) 中的数据进行拟合, 得到探测光束半径为 $5.08 \mu\text{m}$, 拟合的决定系数为 0.997。利用校准后的激光光束有效半径 r_0 可以对不同的血液流速进行测量。图 6(b) 中分别用散点和实线给出了利用 PACS 法测量出的流速以及对应的实际流速。散点与实线数据的相关系数为 0.992, 说明测量的血液流速与实际血液流速具有较好的一致性。

通过改变激光的重复频率可以评估系统利用 PACS 方法测量血液流速的有效范围。当激光重复频率为 100 kHz 时, 系统所能测量的最短的红细胞渡越时间为 0.055 ms, 根据方程 $v_f = r_0 / \tau_f$ 可以

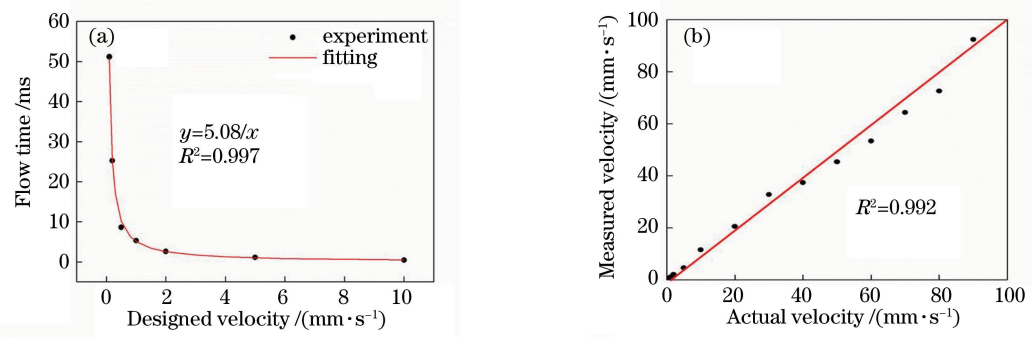


图 6 (a) 渡越时间随设定流速的变化及 (b) 测量流速与实际流速

Fig. 6 (a) Dependence of the flow time on the designed velocity and (b) the measured velocities versus the actual velocities

计算出系统所能测量的最大血液流速为 92.3 mm/s。此外,由于微流泵最小注入速度的限制,系统所能测量的最大渡越时间为 86.1 ms,即系统所能测量的最低血液流速为 0.059 mm/s。

3.3 样品倾斜角度对血液流速测量的影响

为了提高血液流速测量的准确性,验证血流方向与入射激光传播方向的夹角对血液流速测量的影响。将血流方向与垂直于入射激光传播方向的夹角定义为样品倾斜角度,针对同一流速的血液样品,在 $-75^{\circ}\sim 75^{\circ}$ 的倾斜角度范围内,每隔 15° 测量一次血液流速,测量结果如图 7 所示。可以看出:当倾斜角度为 0° 时,测得的血液流速即为实际的血液流速;当样品倾斜角度发生变化时,测量的血液流速与实际血液流速的比值与倾斜角度呈余弦关系,即 PACS 方法测量出的血液流速是实际血液流动的横向速度分量。由于入射激光方向已知,当转动样品到特定位置测得样品的流速最大时,即可获得样品的倾斜角度信息。

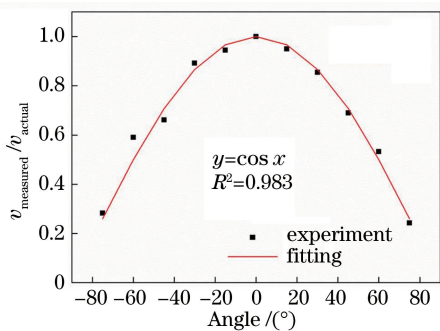


图 7 不同倾斜角度下测量血液流速与实际血液流速的比值
Fig. 7 Ratio between the measured flow velocity and the actual flow velocity at different tilt angles

4 结 论

研究了激光重复频率和样品倾斜角度对基于 PACS 方法测量血液流速结果的影响。结果表明:血液流速越快,所需要的激光重复频率越高。通过调节激光重复频率和激光输出能量,得到系统可以测量的血液流速范围为 $0.059\sim 92.3$ mm/s,测得的血液流速与实际血液流速的相关系数为 0.992。测得的血液流速与实际血液流速的比值与样品倾斜角度呈余弦关系,说明 PACS 方法更适用于测量垂直于入射激光传播方向的血液流速。该研究有望应用于生物组织中绝对血流速度的测量。

参 考 文 献

[1] Tam J, Tiruveedhula P, Roorda A. Characterization

of single-file flow through human retinal parafoveal capillaries using an adaptive optics scanning laser ophthalmoscope [J]. Biomedical Optics Express, 2011, 2(4): 781-793.

[2] Ozdemir S K, Shinohara S, Takamiya S, *et al.* Noninvasive blood flow measurement using speckle signals from a self-mixing laser diode: *in vitro* and *in vivo* experiments[J]. Optical Engineering, 2000, 39 (9): 2574-2580.

[3] Yao X L, Ji K H, Liu G P, *et al.* Blood flow imaging by optical coherence tomography based on speckle variance and Doppler algorithm[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2017, 54(3): 031702. 姚辛励, 季琨皓, 刘桂鹏, 等. 基于散斑方差和多普勒算法的光学相干层析术血流成像[J]. 激光与光电子学进展, 2017, 54(3): 031702.

[4] Bercoff J, Montaldo G, Loupas T, *et al.* Ultrafast compound doppler imaging: providing full blood flow characterization [J]. IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, 2011, 58(1): 134-147.

[5] Li C X, Chen W L, Jiang J Y, *et al.* Laser speckle contrast imaging on *in vivo* blood flow: a review[J]. Chinese Journal of Lasers, 2018, 45(2): 0207006. 李晨曦, 陈文亮, 蒋景英, 等. 激光散斑衬比血流成像技术研究进展[J]. 中国激光, 2018, 45(2): 0207006.

[6] Shang Y, Li T, Yu G Q. Clinical applications of near-infrared diffuse correlation spectroscopy and tomography for tissue blood flow monitoring and imaging[J]. Physiological Measurement, 2017, 38 (4): R1-R26.

[7] Specht J M, Kurland B F, Montgomery S K, *et al.* Tumor metabolism and blood flow as assessed by positron emission tomography varies by tumor subtype in locally advanced breast cancer[J]. Clinical Cancer Research, 2010, 16(10): 2803-2810.

[8] Markl M, Frydrychowicz A, Kozerke S, *et al.* 4D flow MRI [J]. Journal of Magnetic Resonance Imaging, 2012, 36(5): 1015-1036.

[9] Wintermark M, Thiran J P, Maeder P, *et al.* Simultaneous measurement of regional cerebral blood flow by perfusion CT and stable xenon CT: a validation study [J]. American Journal of Neuroradiology, 2001, 22(5): 905-914.

[10] Zhao Y, Chen Z, Saxer C, *et al.* Phase-resolved optical coherence tomography and optical Doppler tomography for imaging blood flow in human skin with fast scanning speed and high velocity sensitivity [J]. Optics Letters, 2000, 25(2): 114-116.

[11] Wang R K, An L. Doppler optical micro-angiography

- for volumetric imaging of vascular perfusion *in vivo* [J]. Optics Express, 2009, 17(11): 8926-8940.
- [12] Leitgeb R A, Schmetterer L, Hitzinger C K, *et al.* Real-time measurement of *in vitro* flow by Fourier-domain color Doppler optical coherence tomography[J]. Optics Letters, 2004, 29(2): 171-173.
- [13] Werkmeister R M, Dragostinoff N, Palkovits S, *et al.* Measurement of absolute blood flow velocity and blood flow in the human retina by dual-beam bidirectional Doppler Fourier-domain optical coherence tomography [J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2012, 53(10): 6062-6071.
- [14] Haindl R, Trassischker W, Wartak A, *et al.* Total retinal blood flow measurement by three beam Doppler optical coherence tomography [J]. Biomedical Optics Express, 2016, 7(2): 287-301.
- [15] Alam S K, Parker K J. Implementation issues in ultrasonic flow imaging[J]. Ultrasound in Medicine & Biology, 2003, 29(4): 517-528.
- [16] Cheng H Y, Duong T Q. Simplified laser-speckle-imaging analysis method and its application to retinal blood flow imaging [J]. Optics Letters, 2007, 32(15): 2188-2190.
- [17] Mesquita R C, Durduran T, Yu G, *et al.* Direct measurement of tissue blood flow and metabolism with diffuse optics[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences, 2011, 369(1955): 4390-4406.
- [18] Chen J J, Wieckowska M, Meyer E, *et al.* Cerebral blood flow measurement using fMRI and PET: a cross-validation study [J]. International Journal of Biomedical Imaging, 2008, 2008: 516359.
- [19] Wang L V. Multiscale photoacoustic microscopy and computed tomography[J]. Nature Photonics, 2009, 3(9): 503-509.
- [20] Fang H, Maslov K, Wang L V. Photoacoustic Doppler effect from flowing small light-absorbing particles [J]. Physical Review Letters, 2007, 99(18): 184501.
- [21] Brunner J, Beard P. Pulsed photoacoustic Doppler flowmetry using time-domain cross-correlation: accuracy, resolution and scalability[J]. The Journal of the Acoustical Society of America, 2012, 132(3): 1780-1791.
- [22] Sarimollaoglu M, Nedosekin D A, Simanovsky Y, *et al.* *In vivo* photoacoustic time-of-flight velocity measurement of single cells and nanoparticles [J]. Optics Letters, 2011, 36(20): 4086-4088.
- [23] Sheinfeld A, Eyal A. Photoacoustic thermal diffusion flowmetry[J]. Biomedical Optics Express, 2012, 3(4): 800-813.
- [24] Chen S L, Xie Z X, Carson P L, *et al.* *In vivo* flow speed measurement of capillaries by photoacoustic correlation spectroscopy [J]. Optics Letters, 2011, 36(20): 4017-4019.
- [25] Ning B, Kennedy M J, Dixon A J, *et al.* Simultaneous photoacoustic microscopy of microvascular anatomy, oxygen saturation, and blood flow[J]. Optics Letters, 2015, 40(6): 910-913.
- [26] Vennemann P, Lindken R, Westerweel J. *In vivo* whole-field blood velocity measurement techniques [J]. Experiments in Fluids, 2007, 42(4): 495-511.
- [27] Chen S L, Ling T, Huang S W, *et al.* Photoacoustic correlation spectroscopy and its application to low-speed flow measurement [J]. Optics Letters, 2010, 35(8): 1200-1202.