

光学相干层析功能成像及脑中风研究进展

杨珊珊, 姚霖, 刘开元, 李鹏*

浙江大学现代光学仪器国家重点实验室, 光电科学与工程学院, 浙江 杭州 310027

摘要 基于光学相干层析成像(OCT)的功能成像技术得以不断发展。光学相干血流造影(OCTA)技术将红细胞与周围组织的相对运动作为内源性的血流标记特征,通过分析 OCT 中空间散射信号的动态光学散射特性,提取血流运动信息。OCTA 技术通过在三维空间区分动态血流区域及其周围静态组织,实现了在体、无标记、三维高分辨率的血流运动造影。光学衰减系数(OAC)算法通过分析 OCT 中空间散射信号随深度的衰减特性,评估组织损伤程度,准确揭示组织活性。OCTA 技术和 OAC 算法使得对脑中风过程的在体、无标记、三维高分辨率的长期监测成为可能,包括缺血及血流再灌注过程、组织损伤及其恢复程度的实时评估。针对 OCTA 技术和 OAC 算法的发展进行了系统性回顾,并介绍了相关脑中风研究的进展,上述 OCT 技术在生物医学领域具有重要的应用价值。

关键词 医用光学; 光学相干层析成像; 光学相干血流造影; 光学衰减系数; 脑中风

中图分类号 TN247

文献标志码 A

doi: 10.3788/CJL202047.0207015

Advances in Functional Optical Coherence Tomography and Neuroimaging of Stroke

Yang Shanshan, Yao Lin, Liu Kaiyuan, Li Peng*

State Key Laboratory of Modern Optical Instrumentation, College of Optical Science and Engineering,
Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310027, China

Abstract Functional imaging techniques have been continuously developed based on optical coherence tomography (OCT). OCT angiography (OCTA) technique employs the relative motion of red blood cells and surrounding tissues as the endogenous label for blood flow. By analyzing the dynamic optical scattering characteristics of spatially scattered signals in OCT, the blood flow motion information is extracted. Thus, OCTA enables an *in vivo*, label-free, and 3D high-resolution blood flow imaging by distinguishing dynamic blood flow areas and surrounding static tissues in three-dimensional space. The optical attenuation coefficient (OAC) algorithm evaluates the degree of tissue damage and accurately reveals tissue activity by analyzing the attenuation characteristics of spatially scattered signals in OCT with depth. OCTA technology and OAC algorithm enable *in vivo*, label-free, 3D high-resolution, and long-term monitoring of stroke progression in real time, including real-time assessment of ischemia and blood flow reperfusion, and tissue damage and its degree of recovery. A systematic review is made on the development of OCTA technology and OAC algorithm, and the progress of related stroke research is further introduced. The above-mentioned OCT technology has important application value in the field of biomedicine.

Key words medical optics; optical coherence tomography; optical coherence tomography angiography; optical attenuation coefficient; ischemic stroke

OCIS codes 170.3880; 110.4500

1 引 言

采用光学相干层析成像(OCT)可实现生物组

织的在体、实时、三维高分辨率成像,具有非侵入、非接触等优点^[1-2]。OCT 技术利用宽带光源的低相干特性,通过测量样品不同深度位置的后向散射光信

收稿日期: 2019-10-08; 修回日期: 2019-12-09; 录用日期: 2019-12-16

基金项目: 浙江省自然科学基金(LR19F050002)、之江实验室重大科研项目(2018EB0ZX01)、中央高校基本科研专项资金(2018FZA5003)

* E-mail: peng_li@zju.edu.cn

号,得到生物组织深度方向的结构信息。结合不同的扫描策略,采用 OCT 技术能够获取生物组织内部微观结构的二维断层图像及三维高分辨率图像。

OCT 技术于 1991 年被提出^[1],随着光学设备和光学元件的技术迭代,尤其是光源和探测器的发展,OCT 技术的成像分辨率、成像速度、视场和灵敏度不断提升。第一代 OCT 技术指时域 OCT (TD-OCT)^[1],采用宽带光源和点探测器,通过参考臂反射镜的轴向机械扫描来获取样品不同深度的信息。此后的傅里叶域 OCT(FD-OCT)利用光谱分辨探测技术并行获取样品不同深度的信息。由于不需要参考臂的机械扫描,FD-OCT 的成像速度大大提高^[3]。根据系统结构,FD-OCT 又分为第二代的谱域 OCT(SD-OCT)^[4]和第三代的扫频 OCT(SS-OCT)^[5]。SD-OCT 采用宽带光源和线阵探测器,通过光谱仪对光谱信息进行解调。SS-OCT 采用宽带扫频光源和高速点探测器,探测在时间上可区分的干涉光谱信号。对上述干涉信号进行傅里叶变换,可得到深度解析的组织结构信息。随着 OCT 技术的不断发展,基于 OCT 的功能成像技术逐渐被提出,即通过分析 OCT 信号的相位^[6]、多普勒效应^[7]、偏振^[8]、衰减^[9]、动态散射特性^[10]或光谱对比度^[11]等信息,观察组织的结构信息和其他功能信息。

近年来,作为主要 OCT 技术之一的光学相干微血管造影(OCTA)技术得到了众多研究者的青睐。血流灌注是衡量生命有机体生理功能和病理状态的重要指标,血流检测对于组织生理和病理状态的评价与诊断具有极其重要的意义^[12-15]。OCTA 将红细胞与周围组织的相对运动作为内源性的血流标记特征,取代常规外源性的荧光标记物,综合利用光学相干成像技术的空间散射信号采集能力以及动态光学散射特性的运动识别能力,区分三维空间中的动态血流区域和静态周围组织。利用 OCTA 技术实现了在体、无标记、三维的血流运动造影,可快速获取毛细血管水平方向的血流灌注信息。利用 OCTA 技术可实现对视网膜和脉络膜血流的实时成像,目前该技术已被广泛应用于眼科临床诊疗,如黄斑疾病治疗^[16]。此外,血流灌注的在体成像有助于人们深入理解脑中风^[17-18]、阿尔茨海默病^[12]、癌症^[11]等与血流灌注密切关联的疾病的病理机制,继而为疾病诊断提供重要的理论指导,为有效评估治疗效果贡献新的方式。

此外,作为生物组织本身的光学特性,光学衰减

系数(OAC)被用于评估活体组织的生理和形态学状况^[19]。在 OCT 技术的成像深度范围内,入射光光强沿深度方向呈指数型衰减,符合比尔-朗伯定律。因此,通过对 OCT 信号衰减特性进行分析可提取生物组织的光学衰减系数。光学衰减系数体现了生物组织对光的散射和吸收能力,与组织结构和细胞生理状态紧密相关,可作为组织细胞损伤的标识。目前,光学衰减系数主要被用于脑中风^[20-21]、脑癌^[22]、动脉粥样硬化斑块^[23]、卵巢癌^[24]和皮肤烧伤伤疤^[25-26]的组织损伤评估。

本文对 OCTA 技术和光学衰减系数的发展进行简要回顾,并展示本课题组在 OCTA 技术和衰减系数计算方法方面的研究进展。此外,对本课题组利用上述 OCTA 技术和光学衰减系数研究脑中风的进展进行了报道。

2 方 法

2.1 OCTA 算法

OCTA 技术将生物组织中运动的颗粒作为内在造影剂,如血红蛋白细胞,以实现血流灌注成像。在时间轴上观察 OCT 信号时,来自静态组织的 OCT 信号表现较为平稳,来自动态血流的 OCT 信号由于血管内红细胞的运动而表现出动态变化。在同一空间位置,以一定的时间间隔 Δt 连续采集多幅断层图像(B-frames),在相邻两幅 B-frames 之间,血管腔内的信号由于血红蛋白细胞的运动而发生变化。通过分析动态散射特性,OCTA 技术可以区分动态血流和静态组织,从而获取血流造影图像。

经傅里叶变换后的 OCT 信号本质上是一个复数函数,包含振幅和相位信息,可表示为

$$\bar{A}_{\text{OCT}}(x, z, t) = A(x, z, t) \exp[i\varphi(x, z, t)], \quad (1)$$

式中: $A(x, z, t)$ 为 OCT 信号振幅部分; $\varphi(x, z, t)$ 为 OCT 信号的相位部分。不同的 OCTA 算法是基于 OCT 信号的不同信息来提取血流信号的。根据采用的信号对象,OCTA 技术可以分为三大类:1)基于相位的 OCTA;2)基于强度(振幅)的 OCTA;3)基于复数信号的 OCTA。其中,当系统噪声不变且复数 OCT 信号的振幅部分较弱时,相位部分将受到系统噪声的干扰,因此单纯基于 OCT 信号中相位信息的 OCTA 算法抗干扰能力较弱^[27-29]。另一方面,单纯基于 OCT 信号强度(振幅)的 OCTA 算法丢失了最敏感的相位信息^[13,30-32],识别微小血流的灵敏度较低。相比之

下,基于复数信号的 OCTA 算法综合了强度(振幅)和相位两方面的信息,保留了强度(振幅)所携带的运动信息的同时,在微小血流识别方面具有更高的运动灵敏度^[33]。

在基于复数信号的 OCTA 核心算法中:差分法(Differential)使用单个样本实现单次动静状态判断,因此单次判断的准确性较低^[13,33];方差法(Variance)通过计算多个时间点采集样本的强度

和相位信息变化来提取血流信号,增加了运动噪声的影响^[27-28,30,34]。在此基础上,Li 等^[35]基于无标记血流对比度的理论机制^[36],提出了一种基于复数互相关的微小运动检测算法(CC-OCTA)。该 CC-OCTA 利用空间窗口计算多个样本的互相关结果,提高了判断准确性,同时避免了引入更多的运动噪声干扰^[31-32]。根据复数互相关计算得到的 CC-OCTA 的去相关为

$$C_n(z, x) = 1 - \frac{\left| \sum_{p=0}^{P-1} \sum_{q=0}^{Q-1} \tilde{A}_n(z+p, x+q) \tilde{A}_{n+1}^*(z+p, x+q) \right|}{\sqrt{\sum_{p=0}^{P-1} \sum_{q=0}^{Q-1} [\tilde{A}_n(z+p, x+q)]^2} \sqrt{\sum_{p=0}^{P-1} \sum_{q=0}^{Q-1} [\tilde{A}_{n+1}(z+p, x+q)]^2}}, \quad (2)$$

式中: $\tilde{A}_n(z, x) = A_n(z, x) \exp[i\varphi_n(z, x)]$ 表示在第 n 幅 B-frame 中 (z, x) 坐标处的样品复数信号, $A_n(z, x)$ 为信号的强度(振幅)分量, $\varphi_n(z, x)$ 为信号的相位分量;符号 $*$ 表示共轭; P 和 Q 分别表示在 B-frame 中所取窗口的纵向尺寸和横向尺寸; p 和 q 为窗口中的各像素序号。基于帧间的复数去相关分析可以获取动态血流信号,重复扫描的 B-frames 可抑制血流成像中的去相关噪声^[37]。继而,采用 OCTA 算法能够实现三维、在体、无标记、实时的毛细血管级别的血流成像。

2.2 OCTA 血流对比度提升

进行 OCT 数据采集时,组织的整体抖动,如呼吸、心跳或不由自主运动,均会导致 OCTA 血流信号中出现噪声。为了解决这个问题,Jia 等^[31]提出在分光谱后计算强度去相关的血流提取(SSADA)算法,通过牺牲轴向分辨率,降低组织轴向运动带来的噪声,提高了血流探测的信噪比(SNR)和血管连贯性。SSADA 方法尤其适用于易受到整体运动影响的成像过程,如眼科,而对于鼠脑成像则没有明显的效果提升。此后,Li 等^[38-39]提出了一种基于角度多样性的独立样本并行采集方法,以及一种基于混合多样性策略实现独立样本高效采集的方案,进一步提高了血流对比度。

在随机噪声对血流信号有干扰的问题上:Makita 等^[40]在复数互相关方法中加入信噪比校正,提出了相关映射 OCTA 方法(cm-OCTA),并对 cm-OCTA 中信噪比校正和散斑抑制进行了理论推导;Braaf 等^[41]分析了复数差分散斑(CDV)方法中的散粒噪声和信噪比归一化,在 CDV 算法中引入了噪声偏置来抑制样本中的运动伪像。为进一步解决随机噪声干扰和噪声校正问题,Huang 等^[42]提出

了一种基于散射信号强度-去相关(ID)统计特性的新的信噪比自适应 ID-OCTA 技术。ID-OCTA 技术研究了 OCTA 去相关值(Decorrelation)与 SNR 倒数(iSNR)的线性收敛关系,在 Decorrelation-iSNR 空间中设计了正比例函数分类器;通过测量 OCT 系统噪声方差确定 Decorrelation-iSNR 空间中分类器的斜率;利用该分类器,ID-OCTA 能够很好地滤除较深位置的静态区域和噪声信号,保留更多的深度血管信息,对较深位置的血管成更清晰的像。图 1 所示为 OCTA 去相关值与 iSNR 的线性收敛关系及其方差,图中: S 表示完全静态的像素点, D_s 表示微小运动的像素点, D_f 表示快速运动的像素点, $N = T \cdot M$ 表示时空域上的核尺寸, M 表示空间核尺寸, T 表示同一位置重复采集的 B-frame 数。相比于基于机器学习的方法^[43],ID-OCTA 方法利用 ID 之间的理论关系,避免了训练的血流仿体数据与真实血流数据之间的差异,且避免了重复训练。

此外,相关研究人员通过血管形态滤波来提高血流图像对比度,并取得了一定进展。相比于产生运动伪影的颗粒噪声,真实血管在三维空间中表现为连续的管状形态。基于 Hessian 矩阵的形态滤波被用于提高 OCTA 中血流的对比度^[44-45],但 OCTA 信号中存在彗星状伪影,使血管变形,给形状滤波增加了难度。Youself 等^[44]通过对不同深度的血流投影图进行二维 Hessian 滤波,避免了彗星状伪影的影响,但三维信息的缺乏导致滤波过程中系统对血管形状的敏感度下降。在上述基础上,Li 等^[46]提出了基于深度自适应阈值和血管形态的自适应分类器,在深度自适应血管阈值分割的基础上,结合三维血管形状特征和彗星状伪影,进行基于三维

Hessian 矩阵的血管形态滤波。相比于二维 Hessian 滤波,基于三维 Hessian 矩阵的形态滤波

具有更高的可靠性,可进一步抑制非血管噪声,提高血流对比度(图 2)。

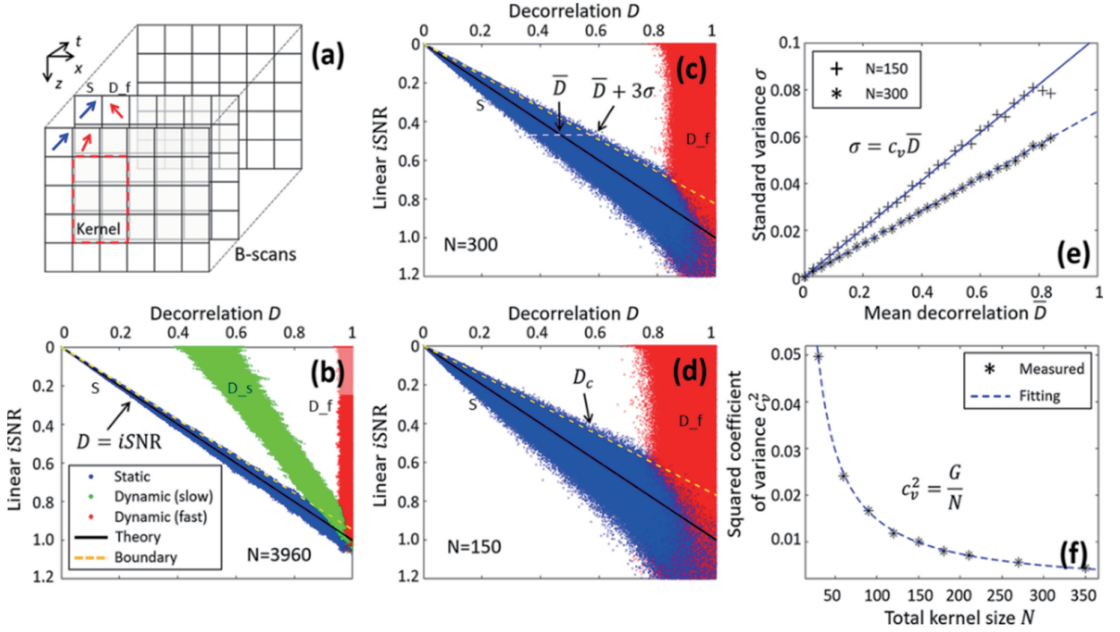


图 1 OCTA 去相关值与 iSNR 的线性收敛关系及 OCTA 去相关值方差^[42]。(a) OCT 数据集示意图;(b) OCTA 去相关值与 iSNR 的关系曲线, $M=99$, $T=40$, $N=3960$; (c) OCTA 去相关值与 iSNR 的关系曲线, $M=15$, $T=20$, $N=300$; (d) OCTA 去相关值与 iSNR 的关系曲线, $M=15$, $T=10$, $N=150$; (e) 所有静态像素点中,标准方差与去相关均值的关系曲线;(f) 所有静态像素点中,方差平方系数与平均核尺寸的关系曲线

Fig. 1 Linear convergence relationship between OCTA decorrelation D and iSNR, and OCTA decorrelation variance^[42]. (a) Schematic of OCT dataset; (b) linear convergence relationship between OCTA decorrelation and iSNR, $M=99$, $T=40$, $N=3960$; (c) linear convergence relationship between OCTA decorrelation and iSNR, $M=15$, $T=20$, $N=300$; (d) linear convergence relationship between OCTA decorrelation and iSNR, $M=15$, $T=10$, $N=150$; (e) relationship between standard variance and mean value of decorrelation for all static voxels; (f) relationship between the square coefficient of variance and average kernel size for all static voxels

2.3 光学衰减系数算法

本课题组搭建的 OCT 系统采用的是 1325 nm 的宽带光源,该波段在组织中的吸收可忽略不计,即 OCT 信号在组织中的衰减主要受散射特性的影响。现有研究中,主要基于单次散射模型对光学衰减系数进行计算,计算方法有两种:曲线拟合方法和深度解析方法。曲线拟合方法是最常用的光学衰减系数计算方法,也较适用于计算均匀介质的全局衰减系数,包括指数拟合方法^[47]和取对数后的多项式拟合方法^[17]。指数拟合方法虽可靠性高,但其迭代过程耗时长。取对数后多项式拟合方法在均匀介质或高散射介质中易受到弱散射颗粒的影响。对于层状结构或者非均匀介质,局部衰减系数的计算更准确、更有意义。基于单次散射模型和 OCT 信号强度随成像深度增加而衰减的特性,Vermeer 等^[47]提出了深度解析的局部衰减系数计算方法。对 OCT 中 A-line 的各像素位置分别计算光学衰减系数,得到深

度解析的光学衰减系数结果。光学衰减系数计算精度的提高通常依赖于时间上或空间上多个样本的平均,时间平均会导致采集时间增加,由于滤波核内样本的不完全独立性,空间平均会使得平均效果不是最优。为解决上述问题,本课题组^[48]提出了结合光谱分割和空间角度分割的多路复用方法(HDM),用于得到深度解析的光学衰减系数,在不增加样本采集时间的前提下,获取多个独立子样本,提高光学衰减系数计算精度。光学衰减系数的计算式为

$$\mu_i \approx \frac{1}{W \times A} \sum_{m=1}^{m=W} \sum_{n=1}^{n=A} \left(\frac{I_{mn_i}}{2\Delta \sum_{i+1}^{\infty} I_{mn_i}} \right), \quad (3)$$

式中: μ_i 表示第 i 个像素点的光学衰减系数值; I_{mn_i} 表示 OCT 子样本中深度方向上第 i 个像素点的 OCT 信号强度; W 表示分光谱数目; A 表示角度分割数目, Δ 表示深度方向上的像素尺寸。

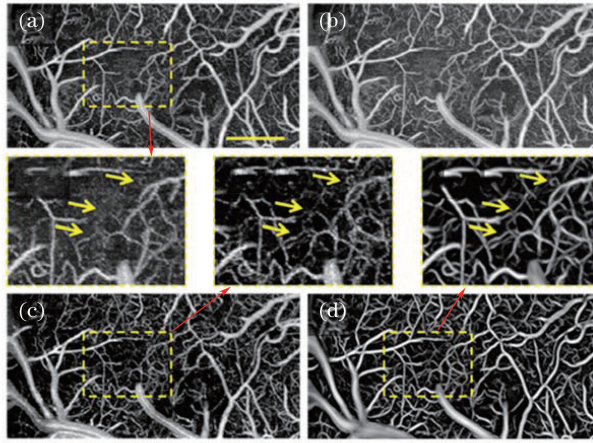


图 2 基于深度自适应阈值和血管形态滤波的 OCTA 血流投影图(比例尺:400 μm)^[46]。(a)采用全局阈值时,浅层的血流投影图;(b)采用全局阈值时,深层的血流投影图;(c)采用深度自适应阈值时的血流投影图;(d)采用深度自适应阈值和三维 Hessian 矩阵形状滤波后的血流投影图

Fig. 2 OCTA projection based on depth-adaptive threshold and vascular morphology filtering (scale: 400 μm)^[46]. (a) Blood perfusion projection in the shallow layer with global threshold; (b) deep perfusion flow projection with global threshold; (c) blood perfusion projection with depth-adaptive threshold; (d) blood perfusion projection after using depth-adaptive threshold and three-dimensional Hessian matrix shape filtering

图 3 所示为利用多路复用方法得到的组织模拟样品的验证结果。图 3(a)是两种组织模拟样品的 OCT 结构断层图像(左:1%琼脂+5%脱脂乳剂;右:1%琼脂+10%脱脂乳剂),图中左侧插入的是随深度衰减的 OCT 信号曲线。图 3(b)所示为组织模拟样品的光学衰减系数分布图,其中,b1-b4 分别是未采用任何平均的原始衰减系数图、采用空间平均方法的衰减系数图、采用时间平均方法的衰减系数图和采用多路复用方法的衰减系数分布图。ROI 1 和 ROI 2 分别为选自两种组织模拟样品的两个区域,两区域在不同方法下的光学衰减系数统计分布如图 3(c)所示,其中 c1-c4 分别与 b1-b4 对应。采用平均方法尤其是多路复用方法后,两种组织模拟样品光学衰减系数分布的重叠区域更小。采用多路复用方法后,ROI 1 和 ROI 2 两区域的光学衰减系数分布均更集中,分别由 $(0.47 \pm 0.26) \text{ mm}^{-1}$ 和 $(0.71 \pm 0.34) \text{ mm}^{-1}$ 变为 $(0.45 \pm 0.05) \text{ mm}^{-1}$ 和 $(0.70 \pm 0.11) \text{ mm}^{-1}$ 。根据光学衰减系数平均值和标准差定义区分系数 D ,定义式为

$$D = \frac{|M_1 - M_2|}{S_1 + S_2}, \quad (4)$$

式中: M_1 和 S_1 分别为 ROI 1 中光学衰减系数的均值和方差; M_2 和 S_2 分别为 ROI 2 中光学衰减系数的均值和方差。采用多路复用方法后,区分系数由 0.43($N=1$)增加至 1.59($N_{\text{HDM}}=25$),优于空间平均法的 0.83($N_{\text{spatial}}=25$)和时间平均法的 1.06

($N_{\text{time}}=25$)。

3 OCT 在脑中风中的研究进展

近年来,作为 OCT 技术的功能扩展,关于采用 OCTA 和光学衰减系数评估组织损伤的研究逐渐增多,近年来这两个技术也逐渐被用于活体脑组织的研究中。脑中风是危害人类健康与生命的常见病和多发病,具有高发病率、高致残率和高致死率^[49-50],其中局部缺血性中风是最常见的脑中风类型,约占 80%^[51]。在局部缺血核心区域,缺血导致能量耗尽,细胞膜离子稳态失衡,继而导致了脑损伤。在缺血核心周边的半影区也存在血流灌注不足,根据血流灌注水平半影区可能恢复正常或者进一步发展为梗死区域,当血流灌注水平持续比较低时,半影区将发展为不可逆的组织损伤^[52]。同时,缺血后的炎症反应也会导致组织损伤,包括细胞死亡和坏死^[53]。需要一种实时、高分辨率的在体成像技术,利用该技术对血流灌注和脑组织损伤进行监测和评估,完成脑中风的机制研究和治疗方法的评估。相比于常规技术,作为 OCT 技术扩展的 OCTA 技术和光学衰减系数算法满足了脑中风研究中对血流灌注和组织损伤的在体监测需求。OCTA 技术能够实现无标记、高分辨率的毛细血管级别的实时、在体、三维血流造影,如图 4 所示。其中图 4(a)和 4(b)表示 OCT 结构断层图和对应的 OCTA 血流断层图,三维血流灌注图及其深度方向

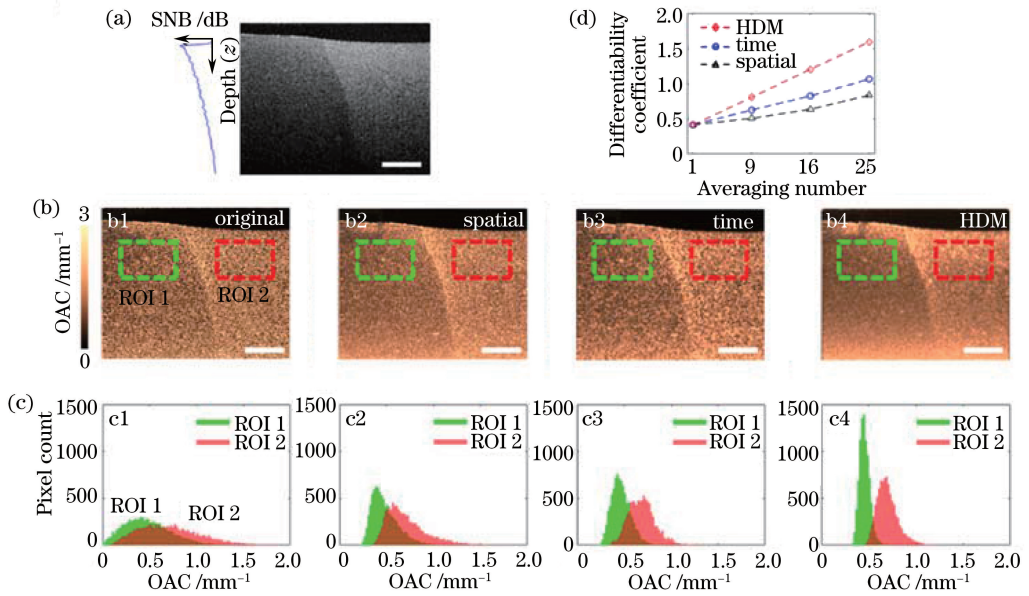


图 3 多路复用方法在模型中的验证结果(比例尺:500 μm)。(a)组织模拟样品的 OCT 结构断层图像;(b)采用不同方法得到的组织模拟样品的光学衰减系数图;(c) ROI 1 和 ROI 2 的光学衰减系数的统计分布,与图 3(b)中不同方法相对应;(d)在不同的平均核尺寸下,不同平均方法对两区域的区分能力

Fig. 3 Verification results of HDM in the phantom (scale: 500 μm). (a) OCT structural cross-section of the tissue phantom; (b) OAC of tissue phantom obtained by different methods; (c) statistical distribution of OAC of regions of interest (ROI 1 and ROI 2), corresponding to the different methods in Fig. 3 (b); (d) ability of different average methods to distinguish two regions under different average nuclear sizes

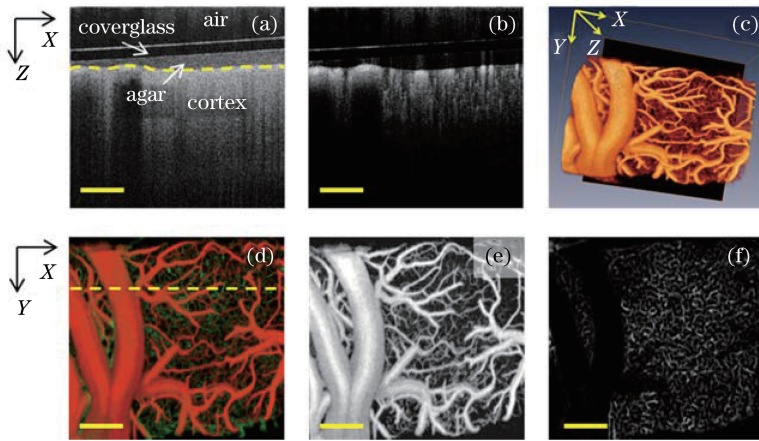


图 4 大鼠皮层 OCTA 成像结果(比例尺:400 μm)^[21]。(a) OCT 结构断层图;(b) OCTA 血流断层图;(c)三维 OCTA 血流造影图;(d)全部三维 OCTA 血流造影投影图;(e)浅层血流投影图;(f)深层血流投影图

Fig. 4 OCTA imaging results of rat cortex (scale: 400 μm)^[21]. (a) OCT structural cross-section; (b) OCTA cross-section; (c) 3D OCTA angiogram; (d) OCTA projection of all depth; (e) projection of shallow blood flow; (f) projection of deep blood flow

血流灌注最大值投影图分别如图 4(c)和 4(d)所示,图 4(e)和 4(f)分别表示浅层血管和清晰可见的深层毛细血管。

结合 OCTA 技术、光学衰减系数测量技术和光栓中风模型,本课题组对大鼠缺血性中风模型进行了长期、在体监测。其中,基于长期光窗和光栓造模

技术对光栓中风模型进行分析,首先对安装了长期光窗的大鼠注射光敏感材料玫瑰红,再将波长 532 nm 的激光聚焦在光窗中的目标血管上,以 30 mW 的功率持续照射 30 min 使目标血管堵塞,以形成局部缺血性中风模型。采用 OCT 系统实时记录缺血过程中血流灌注和组织损伤的动态变化。此

外,采用长期光窗便于对缺血和再灌注过程、组织损伤的蔓延及恢复过程进行长期的跟踪观察。

3.1 OCT 对急性中风的监测

在光栓中风后的前 30 min 中,每隔 2 min 采集一次 OCT 数据,6 个不同代表性时刻的血流灌注最大值投影图如图 5(a)中第一行所示。其中,光栓模型中激光集中照射在圆形区域并聚焦在中间血管上。图 5(a)第二行是激光照射中心位置虚直线处的血流断层图,箭头指示了血流灌注在急性中风期间的变化。各代表性时刻的脑皮层下 500 μm 深度范围内光学衰减系数的均值投影图如图 5(b)第一行所示。图 5(b)第二行是虚直线对应位置的光学衰减系数断层图,箭头指示了光学衰减系数在急性

中风期间的变化。选择图 5(a)和 5(b)中两个目标区域进行急性中风期间血流灌注和光学衰减系数的量化分析。急性中风期间缺血区域和周边正常区域的血流灌注比如图 5(c)所示,缺血核心区域的血流灌注比逐渐降至 0,而周边区域的血流灌注略下降至缺血前的(87 \pm 6)%。其中,血流灌注比是利用区域内血管像素个数除以区域内总像素个数得到的。相对应,如图 5(d)所示,缺血区域的光学衰减系数随着时间逐渐增加至缺血前的(153 \pm 6)%,周边区域的光学衰减系数略增加至缺血前的(110 \pm 4)%。利用基于 OCT 技术的血流造影技术和光学衰减系数成像实现了对急性中风过程的监测,同时也验证了中风模型具有缺血区域和缺血位置可控的优势。

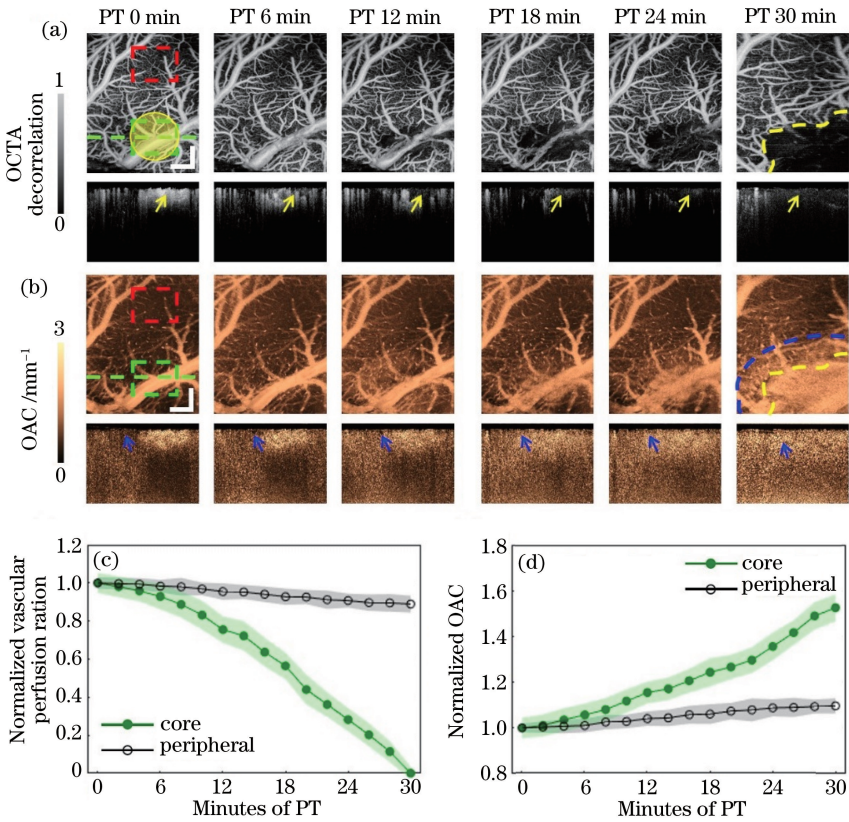


图 5 光栓缺血过程中血流灌注和光学衰减系数变化(比例尺:500 μm)。(a)不同时刻的血流灌注投影图及断层图;(b)各时刻对应的光学衰减系数均值投影图及断层图;(c)缺血区域和周边区域的血流灌注比;(d)缺血区域和周边区域的归一化光学衰减系数

Fig. 5 Changes in blood perfusion and OAC during photothrombosis progression (scale: 500 μm). (a) Projections and cross-sections of blood perfusion at different times; (b) average pojections and cross-sections of OAC at different times; (c) changes in blood perfusion ratio in the ischemic and peripheral areas; (d) changes in normalized OAC of ischemic and peripheral areas

3.2 中风慢性恢复期的血流灌注监测

结合 OCT 技术、光栓中风模型和长期光窗技术,本课题组对缺血性中风的血流灌注和组织损伤进行了长期的在体成像研究。首先,采用

OCTA 技术对光栓形成前后以及中风恢复的整个动态过程(为期 2 周)中的血流灌注进行了无标记的、高分辨率的实时三维成像。缺血中风后的数天到数周时间内,神经血管经历了急性损伤和后

续的慢性修复两个阶段。如图 6 所示,相比缺血前的血流投影图像(Baseline),光栓缺血后血流投影图像(Day1)中出现缺血核心区域,其中圆形区域指示激光照射范围。缺血核心区域内,大血管、小血管的血流灌注消失,组织深层的毛细血管的血流灌注也消失。在光栓造模后的前三天中,缺

血损伤不断扩大,具体表现为缺血区域从缺血核心位置向周边区域蔓延,并在第三天缺血面积达到最大值。从第四天开始为中风的慢性恢复期,出现血流再灌注,缺血面积逐渐减小。右下角为中风后第三天脑组织切片的 TTC 染色结果,空心箭头指示的白色区域为缺血区域。

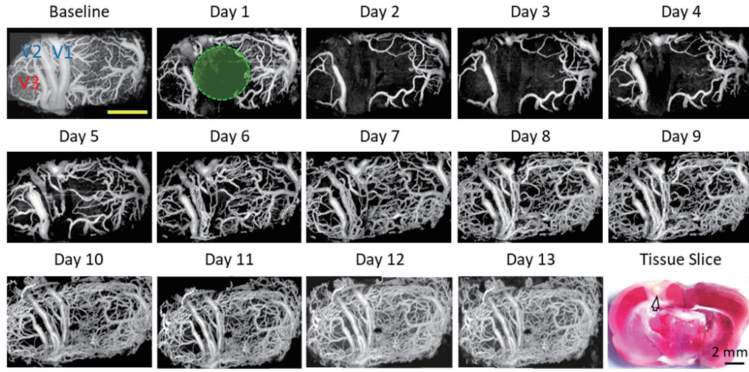


图 6 大鼠光栓中风模型中,OCTA 最大强度投影图像^[21]

Fig. 6 Maximum intensity projections of OCTA in the rat chronic PT stroke model^[21]

OCTA 的三维成像特点使单根血管的跟踪成像成为可能,尤其是堵塞血管及其再通过程的监测。在大血管方面,光栓造模后目标大血管完全堵塞(V1 和 V2),缺血后第四天开始,在原堵塞大血管位置,出现一些较弱的血流信号,且在随后几天这些微小血流逐渐融合在一起。通过对血流灌注恢复的空间位置进行分析,可推断堵塞大血管的血流再灌注表现为自发性溶栓和再通,而非血管再生。同时,堵塞大血管血流灌注的减少由周边未堵塞大血管(V3)进行部分代偿,代偿效应随着堵塞血管的再通而消失。与雄鼠对比,雌鼠的堵塞大血管表现出相同的变化趋势,且血流恢复更快。

除大血管外,在中风的急性期,核心区域浅层的软脑膜微血管内的血流灌注水平急速下降,并在中风慢性恢复期出现血流再灌注。不同于浅层软脑膜微血管在中风后期的恢复,深层毛细血管则表现为永久性的损伤:雄鼠脑皮层中缺血核心区域的深层毛细血管在缺血后迅速消失,而缺血周边区域的毛细血管在缺血后三天内逐渐消失;直至缺血后第十三天,缺血核心区域和缺血周边区域均未观察到毛细血管的血流再灌注。与雄鼠不同,雌鼠缺血周边区域的毛细血管仍存在低水平的血流灌注,即雌鼠的周边缺血区域受到的损伤较小。

3.3 中风慢性恢复期的光学衰减系数监测及组织学对比

OCT 中光学衰减系数与细胞生理状态密切相

关,体现了中风后脑组织损伤的动态变化。为进一步研究光学衰减系数与组织损伤的关系及其在组织学方面的依据,在中风长达 21 天的模型中选取了 6 个有代表性的时间点进行脑组织切片的 HE (Hematoxylin-eosin)染色,并将光学衰减系数结果和血流灌注结果与组织学结果进行对比性分析。6 个代表性的时刻分别为中风前(Baseline)、中风后 1、3、7、14 和 21 天。图 7(a)所示为 6 个代表性时刻的光学衰减系数均值投影图(第一行)及光学衰减系数断层图(第二行),中风后损伤组织的光学衰减系数增大,中风前(Baseline)脑皮层的 OCT 信号有较大的穿透深度,脑组织的光学衰减系数较小。缺血后(Day1),脑组织的光学衰减系数增大,OCT 信号穿透深度变小,根据光学衰减系数评估的脑组织损伤面积为 $(2.18 \pm 0.35) \text{ mm}^2$,并在第三天(Day3)达到最大值 $(4.56 \pm 0.41) \text{ mm}^2$ 。随后,组织损伤面积逐渐减小,并在中风后第 21 天减至 $(1.83 \pm 0.30) \text{ mm}^2$ 。不同时刻下,根据光学衰减系数评估的组织损伤面积如图 7(e)中圆形标记的折线所示。图 7(b)所示为 6 个代表性时刻的血流灌注投影图,结果再次验证了缺血范围在中风后第三天(Day3)达到最大,且该时间点与组织损伤面积达到最大值的时间点一致。不同时刻下,基于血流灌注结果计算的缺血区域面积如图 7(e)中正方形标记的折线所示。

对应地,6 个代表性时刻的脑组织切片 HE 染色结果如图 7(c)所示。第一行为 4×物镜下的 HE

染色切片图像:正常神经元细胞的细胞核大而圆,核仁小且着色深;细胞水肿变性时,细胞核萎缩,坏死神经元的细胞核也严重固缩。40×物镜下的放大图像如图 7(c)第二行所示:凋亡的神经元细胞是清晰可见的(见 Day1 中箭头);在缺血后第三天,组织梗死范围最大(见 Day 3 中虚线),损伤区域内无神经元细胞存在。图 7(d)所示为缺血后第七天缺血核心的 HE 染色图像,图像中存在较多与损伤相关的炎症细胞,包括中性粒细胞(N)、巨噬细胞(M)、淋巴细胞(L)和与组织修复相关的成纤维细胞(F)。缺血后第 7 到 21 天,组织梗死范围逐渐向缺血核心方向减小,但是组织损伤仍然存在。已恢复区域中重新观察到了正常形态的神经元细胞,如图 7(c)箭

头所示(Day21),但是损伤区域内依旧没有神经元细胞,该结果验证了利用光学衰减系数评估组织损伤的可靠性。对图 7(c)第一行中梗死组织面积进行统计,结果如图 7(e)中三角形标记的折线所示。HE 染色结果表明,梗死组织面积在缺血后第三天达到最大值(3.84 ± 0.39) mm²,然后逐渐减小,但在第 21 天仍然存在(0.96 ± 0.30) mm² 的梗死组织。该结果表明缺血后前三天存在损伤区域的扩大,此后损伤区域出现自发性的恢复。对光学衰减系数得到的组织损伤面积序列与 HE 染色结果得到的梗死组织面积序列进行比较,两序列的皮尔逊相关系数高达 97%。该结果验证了利用光学衰减系数评估组织损伤的可靠性,且具有组织学依据。

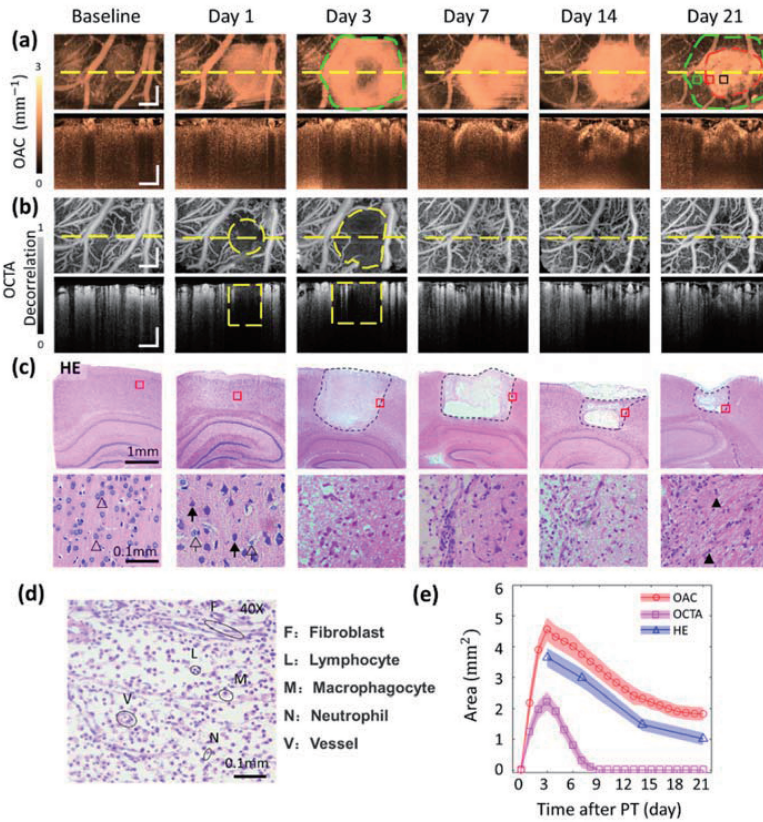


图 7 大鼠中风模型中,慢性恢复期的光学衰减系数、血流灌注及组织学对比^[48]。(a) 6 个代表性时刻的光学衰减系数均值投影图及光学衰减系数断层图(比例尺:500 μm);(b) 各代表性时刻的 OCTA 血流投影图和血流断层图(比例尺:500 μm);(c) 各代表性时刻的 HE 染色结果;(d) 损伤组织中的炎症细胞;(e) 光学衰减系数评估的损伤组织面积、血流灌注评估的缺血面积和组织学 HE 染色切片中梗死组织面积的对比

Fig. 7 Correlation of the OAC, blood perfusion, and histology in the stroke model in rats^[48]. (a) Average projections of OAC and OAC cross-sections at six representative time points; (b) projections and cross-sections of OCTA blood perfusion at each representative time (scale: 500 μm); (c) HE staining results at each representative time; (d) inflammatory cells in the ischemic core; (e) measurement of ischemic or damaged areas based on blood perfusion, OAC, and HE staining

4 结束语

本文主要介绍了 OCT 技术的两大功能拓展: OCTA 技术以及光学衰减系数损伤评估技术,并给出了其在脑中风研究中的进展。在无标记、OCTA 技术方面,介绍了基于复数互相关的 OCTA 高灵敏度血流运动算法,基于运动信息和血管形态的自适应分类器,以及基于 ID 统计特性的一种新的 SNR 自适应 ID-OCTA 技术。在光学衰减系数计算方法上,介绍了基于光谱、角度多样性的多路复用方法。最后,利用 OCTA 和光学衰减系数损伤评估技术,结合大鼠光血栓中风模型,对脑中风的急性中风期以及慢性恢复期进行了长期在体的研究。OCT 及其扩展技术使中风过程的无标记、高分辨率、三维、在体、长期监测成为可能,包括缺血及血流再灌注过程、组织损伤及其恢复程度的实时评估,有助于疾病诊断和疗效评估。上述研究进展对于提高 OCTA 和光学衰减系数损伤评估技术的性能,以及拓宽其在生物医学领域的应用具有重要的意义。

参 考 文 献

- [1] Huang D, Swanson E, Lin C, et al. Optical coherence tomography [J]. *Science*, 1991, 254 (5035): 1178-1181.
- [2] Fercher F, Drexler W, Hitznberger C K, et al. Optical coherence tomography-principles and applications [J]. *Reports on Progress in Physics*, 2003, 66(2): 239-303.
- [3] Li P, Yang S S, Ding Z H, et al. Research progress in Fourier domain optical coherence tomography[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2018, 45(2): 027011. 李培, 杨姗姗, 丁志华, 等. 傅里叶域光学相干层析成像技术的研究进展[J]. *中国激光*, 2018, 45(2): 027011.
- [4] Leitgeb R A, Drexler W, Unterhuber A, et al. Ultrahigh resolution Fourier domain optical coherence tomography[J]. *Optics Express*, 2004, 12(10): 2156-2165.
- [5] Yun S, Tearney G, de Boer J, et al. High-speed optical frequency-domain imaging [J]. *Optics Express*, 2003, 11(22): 2953-2963.
- [6] Adler D C, Huber R, Fujimoto J G. Phase-sensitive optical coherence tomography at up to 370,000 lines per second using buffered Fourier domain mode-locked lasers[J]. *Optics Letters*, 2007, 32(6): 626-628.
- [7] Zhao Y H, Chen Z P, 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.
- [8] de Boer J F, Hitznberger C K, Yasuno Y. Polarization sensitive optical coherence tomography: a review [Invited] [J]. *Biomedical Optics Express*, 2017, 8(3): 1838-1873.
- [9] Faber D J, van der Meer F J, Aalders M C G, et al. Quantitative measurement of attenuation coefficients of weakly scattering media using optical coherence tomography [J]. *Optics Express*, 2004, 12(19): 4353-4365.
- [10] Wang R K, Jacques S L, Ma Z H, et al. Three dimensional optical angiography[J]. *Optics Express*, 2007, 15(7): 4083-4097.
- [11] Faber D J, Mik E G, Aalders M C G, et al. Toward assessment of blood oxygen saturation by spectroscopic optical coherence tomography [J]. *Optics Letters*, 2005, 30(9): 1015-1017.
- [12] Meyer E P, Ulmann-Schuler A, Staufienbiel M, et al. Altered morphology and 3D architecture of brain vasculature in a mouse model for Alzheimer's disease [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105(9): 3587-3592.
- [13] Vakoc B J, Lanning R M, Tyrrell J A, et al. Three-dimensional microscopy of the tumor microenvironment *in vivo* using optical frequency domain imaging [J]. *Nature Medicine*, 2009, 15(10): 1219-1223.
- [14] Jain R K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy [J]. *Science*, 2005, 307(5706): 58-62.
- [15] Carmeliet P, Jain R K. Angiogenesis in cancer and other diseases [J]. *Nature*, 2000, 407(6801): 249-257.
- [16] Lü X Y, Ai M. Research advance in clinical application of optical coherence tomography angiography in macular diseases [J]. *Recent Advances in Ophthalmology*, 2019, 39(1): 94-97. 吕湘云, 艾明. 光学相干断层扫描血管成像(OCTA)在黄斑疾病中的应用进展[J]. *眼科新进展*, 2019, 39(1): 94-97.
- [17] 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.
- [18] Ding H J, Liu K Z, Yang S S, et al. Real-time dynamic recording of cerebral cortical vascular embolization and regeneration in rats [J]. *Acta Physiologica Sinica*, 2019, 71(4): 581-587.

- 丁惠洁, 刘珂舟, 杨珊珊, 等. 大鼠脑皮层血管栓塞和再生过程的实时动态记录方法 [J]. 生理学报, 2019, 71(4): 581-587.
- [19] Nishidate I, Mizushima C, Yoshida K, et al. *In vivo* estimation of light scattering and absorption properties of rat brain using a single-reflectance fiber probe during cortical spreading depression [J]. Journal of Biomedical Optics, 2015, 20(2): 027003.
- [20] Baran U, Li Y D, Wang R K. *In vivo* tissue injury mapping using optical coherence tomography based methods[J]. Applied Optics, 2015, 54(21): 6448-6453.
- [21] Yang S S, Liu K Z, Ding H J, et al. Longitudinal *in vivo* intrinsic optical imaging of cortical blood perfusion and tissue damage in focal photothrombosis stroke model[J]. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 2019, 39(7): 1381-1393.
- [22] Kut C, Chaichana K L, Xi J F, et al. Detection of human brain cancer infiltration *ex vivo* and *in vivo* using quantitative optical coherence tomography[J]. Science Translational Medicine, 2015, 7 (292): 292ra100.
- [23] Xu C Y, Schmitt J M, Carlier S G, et al. Characterization of atherosclerosis plaques by measuring both backscattering and attenuation coefficients in optical coherence tomography [J]. Journal of Biomedical Optics, 2008, 13(3): 034003.
- [24] Yang Y, Wang T H, Biswal N C, et al. Optical scattering coefficient estimated by optical coherence tomography correlates with collagen content in ovarian tissue [J]. Journal of Biomedical Optics, 2011, 16(9): 090504.
- [25] Gong P J, McLaughlin R A, Liew Y M, et al. Assessment of human burn scars with optical coherence tomography by imaging the attenuation coefficient of tissue after vascular masking [J]. Journal of Biomedical Optics, 2014, 19(2): 021111.
- [26] Es'Haghian S, Gong P J, Chin L, et al. Investigation of optical attenuation imaging using optical coherence tomography for monitoring of scars undergoing fractional laser treatment[J]. Journal of Biophotonics, 2017, 10(4): 511-522.
- [27] Fingler J, Schwartz D, Yang C, et al. Mobility and transverse flow visualization using phase variance contrast with spectral domain optical coherence tomography[J]. Optics Express, 2007, 15 (20): 12636-12653.
- [28] Yu L F, Chen Z P. Doppler variance imaging for three-dimensional retina and choroid angiography[J]. Journal of Biomedical Optics, 2010, 15(1): 016029.
- [29] Makita S, Hong Y, Yamanari M, et al. Optical coherence angiography[J]. Optics Express, 2006, 14 (17): 7821-7840.
- [30] Mariampillai A, Standish B A, Moriyama E H, et al. Speckle variance detection of microvasculature using swept-source optical coherence tomography[J]. Optics Letters, 2008, 33(13): 1530-1532.
- [31] Jia Y L, Tan O, Tokayer J, et al. Split-spectrum amplitude-decorrelation angiography with optical coherence tomography[J]. Optics Express, 2012, 20 (4): 4710-4725.
- [32] Enfield J, Jonathan E, Leahy M. *In vivo* imaging of the microcirculation of the volar forearm using correlation mapping optical coherence tomography (cmOCT) [J]. Biomedical Optics Express, 2011, 2 (5): 1184-1193.
- [33] Wang R K, An L, Francis P, et al. Depth-resolved imaging of capillary networks in retina and choroid using ultrahigh sensitive optical microangiography [J]. Optics Letters, 2010, 35(9): 1467-1469.
- [34] Barton J K, Stromski S. Flow measurement without phase information in optical coherence tomography images[J]. Optics Express, 2005, 13(14): 5234-5239.
- [35] Guo L, Li P, Pan C, et al. Improved motion contrast and processing efficiency in OCT angiography using complex-correlation algorithm[J]. Journal of Optics, 2016, 18(2): 025301.
- [36] Cheng Y X, Guo L, Pan C, et al. Statistical analysis of motion contrast in optical coherence tomography angiography[J]. Journal of Biomedical Optics, 2015, 20(11): 116004.
- [37] Vakoc B J, Tearney G J, Bouma B E. Statistical properties of phase-decorrelation in phase-resolved Doppler optical coherence tomography [J]. IEEE Transactions on Medical Imaging, 2009, 28(6): 814-821.
- [38] Li P, Cheng Y X, Li P, et al. Hybrid averaging offers high-flow contrast by cost apportionment among imaging time, axial, and lateral resolution in optical coherence tomography angiography [J]. Optics Letters, 2016, 41(17): 3944-3947.
- [39] Li P, Cheng Y X, Zhou L P, et al. Single-shot angular compounded optical coherence tomography angiography by splitting full-space B-scan modulation spectrum for flow contrast enhancement[J]. Optics Letters, 2016, 41(5): 1058-1061.
- [40] Makita S, Kurokawa K, Hong Y J, et al. Noise-immune complex correlation for optical coherence angiography based on standard and Jones matrix optical coherence tomography[J]. Biomedical Optics Express, 2016, 7(4): 1525-1548.

- [41] Braaf B, Donner S, Nam A S, et al. Complex differential variance angiography with noise-bias correction for optical coherence tomography of the retina[J]. *Biomedical Optics Express*, 2018, 9(2): 486-506.
- [42] Huang L Z, Fu Y M, Chen R X, et al. SNR-adaptive OCT angiography enabled by statistical characterization of intensity and decorrelation with multi-variate time series model [J]. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 2019, 38(11): 2695-2704.
- [43] Zhang A Q, Zhang Q Q, Chen C L, et al. Methods and algorithms for optical coherence tomography-based angiography: a review and comparison [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2015, 20(10): 100901.
- [44] Yousefi S, Liu T, Wang R K. Segmentation and quantification of blood vessels for OCT-based microangiograms using hybrid shape/intensity compounding [J]. *Microvascular Research*, 2015, 97: 37-46.
- [45] Lee J, Jiang J Y, Wu W C, et al. Statistical intensity variation analysis for rapid volumetric imaging of capillary network flux [J]. *Biomedical Optics Express*, 2014, 5(4): 1160-1172.
- [46] Li P, Huang Z Y, Yang S S, et al. Adaptive classifier allows enhanced flow contrast in OCT angiography using a histogram-based motion threshold and 3D Hessian analysis-based shape filtering[J]. *Optics Letters*, 2017, 42(23): 4816-4819.
- [47] Vermeer K A, Mo J, Weda J J A, et al. Depth-resolved model-based reconstruction of attenuation coefficients in optical coherence tomography [J]. *Biomedical Optics Express*, 2014, 5(1): 322-337.
- [48] Yang S S, Liu K Z, Yao L, et al. Correlation of optical attenuation coefficient estimated using optical coherence tomography with changes in astrocytes and neurons in a chronic photothrombosis stroke model [J]. *Biomedical Optics Express*, 2019, 10(12): 6258-6271.
- [49] Brott T, Bogousslavsky J. Treatment of acute ischemic stroke [J]. *New England Journal of Medicine*, 2000, 343(10): 710-722.
- [50] Mukherjee D, Patil C G. Epidemiology and the global burden of stroke[J]. *World Neurosurgery*, 2011, 76(6): S85-S90.
- [51] Wang X W, Li H L, Ding S. Pre-B-cell colony-enhancing factor protects against apoptotic neuronal death and mitochondrial damage in ischemia [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 32416.
- [52] Barone F C, Kilgore K S. Role of inflammation and cellular stress in brain injury and central nervous system diseases[J]. *Clinical Neuroscience Research*, 2006, 6(5): 329-356.
- [53] Woodruff T M, Thundyil J, Tang S C, et al. Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke [J]. *Molecular Neurodegeneration*, 2011, 6(1): 11.