

光学成像技术在中医针刺研究中的应用进展

许越¹, 聂立铭^{2*}¹厦门大学公共卫生学院分子影像暨转化医学研究中心, 福建 厦门 361102;²广东省医学科学院/广东省人民医院, 医学研究部, 光学分子影像实验室, 广东 广州 510080

摘要 以针刺和拔罐疗法为代表的中医理疗被用于治疗肌肉骨骼疾病、缓解疼痛症状已有数千年的历史。中医理疗以疗效显著、安全性高的优势在全球流行。然而,传统的中医理论对于针刺疗法治疗机制的解释缺乏有效的科学证据,而且大多数针刺疗法的疗效缺乏有效的定量评估,无法保证其治疗效果及安全性。凭借高分辨率、高对比度、高安全性等特点,光学成像技术在针刺疗法的机制研究与疗效评估方面展现出了巨大潜力。目前用于研究针刺疗法的光学成像技术主要有激光多普勒血流灌注成像、激光散斑成像、近红外光谱成像和光声成像等,它们分别在针刺的血流动力学效应、大脑响应、治疗机制与疗效评估等方面取得了一定进展,但目前鲜见系统总结上述光学成像技术应用于针刺疗法研究的报道。鉴于此,本文系统介绍了这几类光学成像技术的特点以及它们在针刺疗法研究中的应用情况,并展望了其临床研究前景。

关键词 医用光学; 针刺疗法; 光学成像技术; 激光多普勒; 激光散斑成像; 近红外光谱; 光声成像

中图分类号 TH773;R246.9

文献标志码

DOI: 10.3788/CJL221142

1 引言

随着现代社会工作压力的增大,腱鞘炎、腰椎间盘突出症、颈椎病、偏头痛等职业病的发病趋势不断升高^[1]。对于肌肉骨骼疾病的疼痛症状而言,目前主流的应对方案是服用止痛药,但多数止痛药均存在一定的副作用。在镇痛方面,中医的针刺疗法被认为是相对安全且高效的手段^[2]。除镇痛功能以外,针刺疗法还能有效降低肌肉紧张度,缓解肌肉僵硬^[3-4]。除此以外,针刺疗法还可以作为多种疾病的辅助治疗方案^[5],尤其是在治疗卒中、偏头痛等神经类疾病中,针刺疗法往往具有较好的治疗效果^[6-7]。

传统中医理论认为,针刺疗法通过刺激人体穴位可以达到“疏通经络、调和阴阳、扶正祛邪”等功效,使人体趋于一个稳定的状态,从而提高人体免疫力,改善局部血液循环。然而,在现代医学评价体系下,针刺疗法的中医揭示缺乏有效的科学证据。目前,关于针刺疗法的研究多数都以问卷调查等形式进行,没有从影像或生物参数指标等量化角度分析中医理疗的效果,无法准确评价其疗效。因此,有必要通过各种现代化医学影像技术评价中医针刺疗法的效果。

目前用于研究拔罐与针刺疗法的医学影像手段主要有功能性核磁共振成像(fMRI)^[8-10]、超声成像^[11]、正电子发射断层成像(PET)^[12-13]以及光学成像^[14]等。如图 1 所示,不同的成像手段各有优缺点,例如:fMRI 主

要用于研究针刺过程中不同脑区的激活,具有较高的分辨率和对比度,但其工作时处会在强大的磁场中,很容易受到金属物质和电子产品的干扰,甚至可能会使心脏起搏器失效;以 PET 为代表的核医学影像主要用于观察针刺过程中能量与物质的代谢情况、受体的表达以及脑部血容量变化等,但存在放射性危险,不适合用于长期多次的持续监测。光学成像能够充分利用光线在生物细胞内的传播特性(结合各种分子探针)对生物体进行直观成像,获取丰富的生物学信息,而且具有较高的安全性,非常适用于观察生物组织的血管结构以及监测局部血流动力学变化。光学成像分为有标记光学成像与无标记光学成像,其中的无标记光学成像以其非侵入性特点,能够对生物活体细胞进行长时程、无损伤的高分辨观测,在针刺疗法研究中具有广阔的前景^[15]。

目前,已有大量报道总结了 PET 与 fMRI 在针刺疗法过程中的脑功能成像,但鲜见光学成像技术应用于拔罐、针刺疗法研究的系统总结。目前,用于研究针刺与拔罐的光学成像技术主要有激光多普勒灌注成像(LDPI)、激光散斑成像(LSI)、近红外光谱(NIRS)以及光声成像(PAI)等。通过光学成像技术可以直接观察被治疗位置的组织图像,以及治疗前后的功能参数变化,从而揭示治疗机制。光学成像技术能够实时、无创、可视化地对人体进行监测,为中医理疗的研究和评估提供了一条新途径。本文系统介绍了 LDPI、LSI、

收稿日期: 2022-08-12; 修回日期: 2022-10-02; 录用日期: 2022-10-21

通信作者: *limingnie@gmail.com

NIRS、PAI 的特点以及它们在拔罐、针刺疗法研究方面的应用进展。

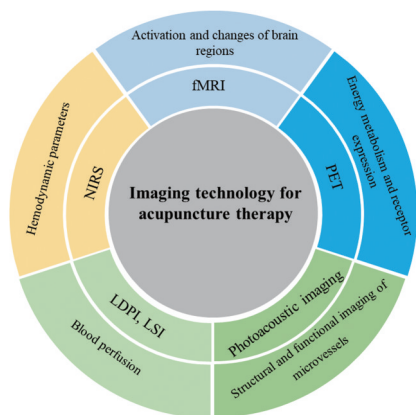


图 1 用于研究针刺疗法的影像技术及其适用范围

Fig. 1 Different imaging technologies for studying acupuncture therapy and their application scope

2 LDPI 在中医疗理研究中的应用

激光多普勒是近年来较为流行的一种医学测量技术^[16]。自 1975 年首次使用 LDPI 监测皮肤微循环血流量后,激光多普勒技术已被广泛应用于基础医学研究的各个领域。激光多普勒技术不仅可以测量人体某一点的血流灌注,还可以测量一定范围内的血流灌注^[17]。有研究报道认为,中医针刺疗法可以通过物理刺激改变局部血液循环^[18-20],测量针刺之后的局部血流灌注变化有助于了解其治疗机制、评估其治疗效果。利用激光的多普勒效应,LDPI 可以在无创条件下实时监测生物体的血流动力学参数。得益于其较高的穿透力^[21],LDPI 可以测量动物的皮下组织、骨骼、四肢,甚至是内脏的血流参数^[22-23]。此外,光线在空气中传播不会像超声那样出现严重衰减,因此,激光多普勒血流仪的探头可以直接与皮肤接触,而不用像多普勒超声仪那样需要在待测表面涂抹超声凝胶,在操作上更为方便。

除 LDPI 外,常见的用于测量血流灌注的光学成像技术还有 LSI 和光学相干层析成像(OCT)技术。它们都以动态散射理论为基础,利用相干检测方法提取组织中运动的散射粒子引起的光频率和强度变化,实现对运动速率的定量分析。其中:OCT 具有较高的横向分辨率及轴向分辨率,但其扫描速度较慢,难以实现大范围内血管的血流灌注实时监测^[24];LSI 的成像系统结构更加简单,成像算法选择较为灵活,不仅具有较高的时间分辨率和图像分辨率,还有监测面积大、非接触等优势^[25],更加适用于针刺疗法的研究。近年来,LSI 被逐渐用于针刺疗法的研究中,并取得了一定成果。

2.1 针刺疗法中血流灌注的变化

应用针灸治疗肌肉僵硬等症状的潜在机制是通过穴位的特异性刺激改善穴位周围肌肉组织的血液循

环,因此,穴位周边局部血流改变量是针灸疗效的重要参考指标。Kong 等^[26]应用 LSI 监测了进针前后手指的血流灌注,结果发现针刺时受试者手指的血流灌注指数(PI)相比自然状态下提高了 60% 以上。这一结果初步说明了针刺对于局部血流灌注具有调控作用。一直以来,针刺使用的针都是表面较为平滑的毫针,而近年来越来越多的研究认为改变针体表面的形状可能会增强针灸对人体的刺激强度。Kwon 等^[27]发现使用粗糙表面的针进行针灸能带来更强的镇痛效果。相比于常规的毫针,多孔针的表面粗糙度更大,可能具有更高的刺激强度。Kim 等^[28]利用 LDPI 观察了多孔针与常规针针刺时血流灌注变化的差异,结果显示:多孔针能显著加快局部血流。他们分别在志愿者小腿同一侧的足三里穴分别使用两种针进行针灸治疗,并采集穴位周围的局部血流灌注图像;参与者表示使用多孔针针灸没有增加额外的不适感,同时研究人员发现使用多孔针针灸时对应部位的血流灌注图像的信号强度高于常规针。这一研究揭示了多孔针针灸的重大应用前景。

针灸不仅可以影响穴位周围的血流,还可以影响身体其他区域甚至是内脏器官的血流^[29]。Zhang 等^[30]在小鼠足三里穴(ST36)施以手针和电针(EA)刺激,并采集胃部血流灌注图像,观察电针及手针对胃血管的调节作用,结果如图 2 所示。结果显示:进针后,血流灌注并未马上增加;刺激持续 5 min 后,胃部小血管的血流灌注明显增加,整个胃的血液循环更强;拔针后,血流灌注继续维持较高水平达 10 min 以上,且整个治疗过程中胃部微血管扩张、延长;与手针相比,电针能使胃血流灌注达到更高的水平,这可能与电流脉冲产生的更强烈刺激有关。肝脏表面分布着丰富的血管网络,也十分适合用于观察血流灌注量的变化。Wang 等^[31]利用 LSI 研究了针刺对小鼠肝脏血流量的影响。他们采集了以不同方式针刺时小鼠肝脏表面的微循环,结果显示:相比于针刺曲泉穴(LR8)与非穴位,针刺足三里穴能够显著提高小鼠肝脏表面的血流灌注量,而且电针能够产生比手针更加明显的血流灌注变化量。这一研究结果进一步证实了针刺疗法对内脏微循环的影响。

2.2 穴位特异性验证

中医理论认为,腧穴是针刺的刺激点,是身体病变的反应点,亦是血液循环的中转站。传统中医理论认为人体是由穴位、经络、内脏器官构成的有机整体。有研究表明,穴位、经络与脑功能区之间可能存在特定的对应关系^[32-35],因此针刺不同的穴位可能会导致大脑不同的功能区或身体某些部位的状态发生改变。得益于较高的时间分辨率,LDPI 与 LSI 能够对人体的血流灌注进行快速采样,进而能够及时采集针刺过程中任一时刻人体的局部血流速度,分析针刺对局部血流的影响。

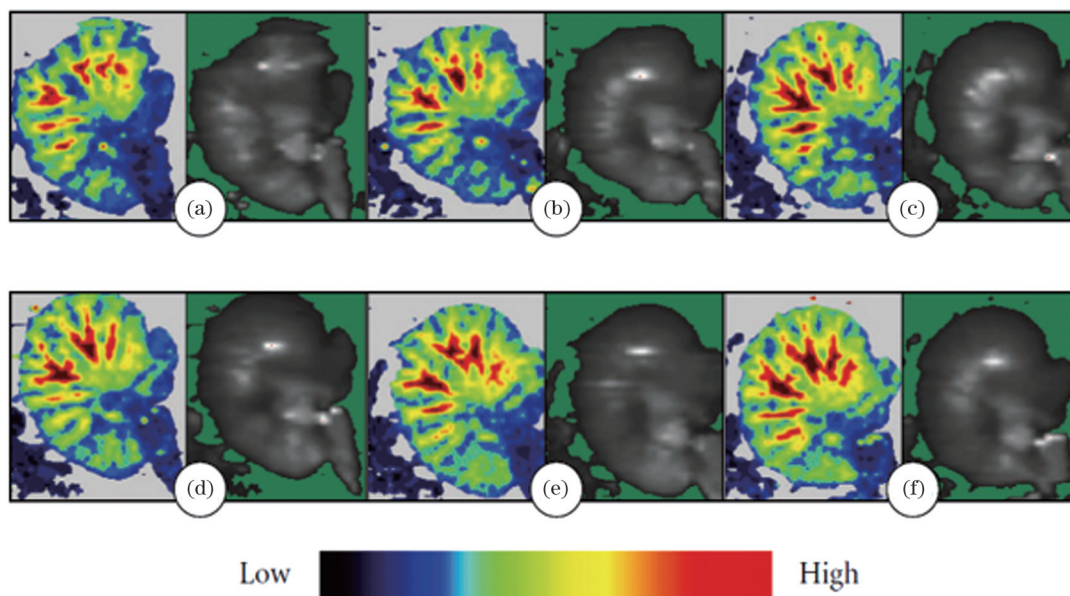


图2 电针刺激期间大鼠胃部激光多普勒血流灌注图像的连续显示^[30]。(a)电针刺激前;(b)电针刺激瞬间;(c)电针刺激5 min;(d)电针刺激10 min;(e)停止电针刺激后5 min;(f)停止电针刺激后10 min

Fig. 2 Continuous display of gastric laser Doppler blood perfusion images of rats during electroacupuncture (EA)^[30]. (a) Before EA stimulation; (b) instant of EA stimulation; (c) EA stimulation for 5 min; (d) EA stimulation for 10 min; (e) 5 min after ceasing EA stimulation; (f) 10 min after ceasing EA stimulation

Litscher 等^[36]运用 LDPI 评估了进针后指尖皮肤血流灌注的变化。他们将 51 名健康志愿者分为经穴针刺组与安慰剂穴位组(即在非穴位进行针刺刺激),并监测治疗前后的指尖平均血流灌注。实验结果表明:在内关穴(PC6)针刺时局部皮肤血流灌注变化幅度相比非穴位针刺更加明显;在内关穴针刺之后的血管舒张相比非穴位针刺持续了更长时间。Tian 等^[21]应用 LSI 观察了针刺合谷穴(LI4)对于面部局部血流量的影响,结果发现:针刺开始之后,面部除嘴区外的大多数区域的血流量出现显著增加,其中两颊的皮下血流量提高得最为明显;结束针刺刺激后,血流量逐渐下降。这一结果说明面部血流量的增加是由针刺合谷穴引起的,表明穴位具有特异性。一直以来,针灸总有“缺穴不漏经”的理论,即:针刺的部位选择若不在穴位上,最好也要选择经络非穴位。这意味着经络同样也存在特异性。为验证这一古老的理论,2013 年,Zhang 等^[37]利用 LDPI 监测了经络非穴位和离经非穴位针刺前后,小腿膀胱经络区域周围的血流灌注。整个扫描视野分为 7 个分区,计算每个分区的平均血流灌注,然后计算其血流灌注的变化率,以用于比较。结果显示:在经络非穴位针刺期间或针刺之后,膀胱经区和承山穴(BL57)周围的血流灌注变化率显著高于离经非穴位。这一实验验证了“缺穴不漏经”这一古老的中医理论,同时证实了经络非穴位同样存在特异性。

Hsiu 等^[38]采用 LDPI 监测了手部合谷穴与脚部京骨穴(BL64)及其周边非穴位部位针灸时的血流灌注变化,结果显示:无论是手部还是脚部,在穴位处进行针灸刺激后局部血流灌注的提升更为显著。这一结果

说明穴位存在特异性。

目前,LDPI 与 LSI 在针刺疗法的单穴位特异性研究方面已经取得了一定成果,但临床上的针刺治疗往往是多穴位同时刺激,而多穴位刺激所产生的血流灌注变化目前还没有太多相关研究。因此,目前的光学成像技术仍然无法对临床治疗提供有效指导,希望后续会有更多对多穴位同时刺激的特异性的研究。

2.3 针刺治疗机制的研究

人体的局部病变往往伴随着相应部位局部血流灌注的异常,而针刺可以通过改善局部血液循环来达到治疗疾病的目的。在实时监测病变部位的血流灌注时,接触式成像系统存在一定的局限性,例如可能会导致受损皮肤出现感染,或者在长时间眼部成像时易引起患者的不适。LDPI 的扫描式监测系统以及 LSI 均采用非接触方式采集数据,具有非接触、无创伤、快速扫描等优点,可以在很大程度上避免接触式成像系统存在的局限性。采用 LDPI、LSI 测量特定部位的血液循环改善情况,有助于评估针刺疗效并揭示其治疗机制。

红斑痤疮是一种特殊的慢性皮肤病,患者的皮肤表面往往会出现较为明显的充血症状。针刺疗法可以通过调节局部血液循环改善血癖凝结、血管扩张的症状。Gao 等^[39]利用 LDPI 监测了红斑痤疮患者在接受针灸治疗前、治疗中和治疗后鼻头的局部血流灌注,结果表明:在接受针刺治疗期间与治疗结束后,患者鼻头不同区域的血流灌注得到了重新分配,红斑痤疮区域的血流灌注明显降低。这一结果提示针刺可能通过在作用区域内重新分配不同区域微血管的血液循环来治

疗红斑痤疮。因此,针刺可能是一种治疗面部红斑痤疮的有效替代疗法。

青光眼患者常常伴有部分眼部血管血流异常。临床上,针灸对于青光眼所引起的疼痛或者头痛都具有较好的效果,其主要通过疏通眼睛周围的血管使视网膜血管内的血液循环更加通畅。Vanzini等^[40]选取了98名开角型青光眼受试对象,对他们进行为期6周的超低照度激光针灸治疗,并在每次治疗前后使用LDPI对其眼部的血流灌注进行测量;结果显示:在激光针灸治疗后,患者眼部原本血流灌注不足的症状得到了很大改善。这说明激光针灸可以有效改善开角型青光眼患者眼部血流灌注不足的症状,舒张原本收缩的血管。

口干症是一种由唾液分泌不足而导致患者感到口腔干燥的病症。腮腺是人体的唾液分泌腺,因此,口干症往往与腮腺异常有关。有研究表明,针灸可以很好地治疗口干症。Blom等^[41]使用4种不同类型的针刺刺激分别对21名口干症患者进行治疗,并在治疗开始前、治疗期间和治疗结束后,使用LDPI监测腮腺附近表面皮肤中的局部血流灌注;实验结果表明,在用手针和低频(2 Hz)电针对患者进行治疗期间以及治疗结束后,覆盖腮腺皮肤的局部血流量相比治疗期得到了显著提高。此外,唾液流量增加程度较高的患者的局部血流灌注的提高更为明显,这说明针刺刺激可能会改善腮腺的供血,使腮腺恢复正常的唾液分泌功能,从而达到治疗口干症的目的。

除了面部、眼部或口部等位于体表的器官以外,针刺还能够作用于内脏,对部分内脏疾病具有良好的调控作用^[42]。文梅等^[43]通过LSI研究了电针刺刺激对小鼠酒精性肝损伤的治疗效果,结果显示,经电针治疗后,小鼠肝脏表面的血流灌注显著提高。这表明即使在病理状态下电针刺刺激仍然能够调控受损肝脏表面的血流灌注量。因此,针刺可能对肝脏疾病具有一定的治疗作用,可以作为辅助疗法改善肝脏的代谢。

除上述疾病外,针刺疗法在镇痛方面也具有较好的效果。Min等^[44]利用LDPI研究了针灸镇痛作用与微循环之间的联系。他们分别使用留针、单次操作、多次操作的方式刺激受试者的合谷穴,并对比了每组的血流灌注与疼痛阈值;结果表明:进针后进行多次插拔、捻转等操作的治疗比不进行操作或者单次操作更能显著增加患者的局部血流灌注,并可以降低疼痛值。这一结果提示针刺疗法可以对脑区产生影响,针刺疗法的镇痛作用可能与局部微循环的改变有关。

以上表明LDPI、LSI在针刺研究中具有广阔的应用前景,并在血流效应、穴位特异性与疾病治疗疗效评估等方面取得了一定进展。在微循环血流监测中,LDPI技术已经非常成熟,但受限于成像原理,其空间分辨率与时间分辨率都较低,仅能监测直径约为1 mm的血管的血液循环;但是,LDPI仅在单点式测量方式下具有较高的时间分辨率,当需要获取图像时,其时间

分辨率将大幅降低。相比之下,LSI具有更高时间和空间分辨率的全视场测量优势,能够实现微米级空间分辨率以及超过100 Hz的时间分辨率。随着算法的不断迭代以及仪器的优化,LSI测量精度不断提高,未来它们可以对针刺所产生的血流响应进行更加精准的定量测量。

3 NIRS在针刺疗法研究中的应用

人体组织的血流动力学参数是运动生理学和康复医学中非常重要的生理指标。NIRS是一种无创且成本相对较低的光学技术,是最为方便的血流动力学测量工具之一^[45-46]。近红外光谱是人类在吸收光谱中发现的第一个非可见光区,是介于可见光与中红外之间的电磁波,其光谱波长在700~1100 nm之间,具有较强的穿透能力。NIRS传感器基于Beer-Lambert方程通过区分脱氧血红蛋白与氧合血红蛋白的吸收光谱图计算目标区域的血氧饱和度,能够轻松实现对皮肤、肌肉以及大脑等部位血流动力学参数的测量。与fMRI或PET等影像技术需要大尺寸成像器材不同,基于NIRS技术可以设计出尺寸极小且能够依附在人体表面的传感器,具有微小尺寸的NIRS探头能够轻易突破空间限制,放置在人体表面的任何位置实时测量血流动力学参数的变化。2019年,Gao等^[47]将NIRS传感器集成在微型探头上,然后将探头嵌入罐体内,获得了拔罐部位组织中的血流动力学参数,使得拔罐时罐体所覆盖皮肤区域血氧饱和度的实时测量成为可能。针刺疗法往往需要将针头刺入皮肤内并保持一段时间,受限于这些针的存在,尺寸较大的成像设备摆放时会有较大困难,因而无法测量针刺部位周边血流动力学参数的变化;而NIRS的传感器尺寸较小,测量部位可灵活选取,可以在针刺疗法的相关研究中使用。

3.1 针刺时的局部血流动力学变化

针刺被认为是治疗肌肉疼痛、降低肌肉僵硬度的有效方法。中医学认为大部分肌肉僵硬主要是特定肌肉内血管血流阻塞引起的,而针刺刺激可以增强组织的局部血流量,激活血流不足的血管,同时提高肌肉的氧合指数,故而可能会对肌肉劳损产生潜在的积极治疗作用^[48-49]。目前,NIRS已被用于测量骨骼肌(如股四头肌、肱三头肌或斜方肌等)的氧合指数。Kimura等^[50]使用NIRS研究了电针刺刺激对人体肌肉氧气供应量的影响,结果显示:使用频率为20 Hz的电针对志愿者进行15 min的刺激后,肌肉的氧合指数(TOI)上升。这说明电针刺刺激可以促进局部肌肉氧气供应的增加。

除了引起皮下血氧值的变化之外,针刺疗法还能激活对应的脑区,使其氧代谢水平发生变化。在脑科学研究中,大脑中不同脑区的血流速度、氧合血红蛋白与脱氧血红蛋白的含量等参数与其生理活动状态高度相关,因此多数脑功能成像都聚焦于脑部的血容量与血氧参数。目前用于监测脑区激活的成像方式主要有

fMRI、PET 等脑功能成像技术,其中:fMRI的成本较高,且成像前准备工作较为繁琐,需要受试者长时间保持固定姿势,存在较大局限性;而PET存在辐射风险,可能会对受试者的身体产生危害,不适合用于反复多次监测。在重症监护医学中,NIRS已被用来监测脑部氧供的充足性,其波长在安全范围内,且扫描速度较快,可用于实时监测,适用于研究针刺对脑血流动力学参数的影响。目前,NIRS主要通过两种方式消除大脑颅骨对测量精确度的影响:1)在硬件层面,通过使用不同的传感器或者利用多波长来区分颅外和颅内的血红蛋白吸收^[51];2)在软件层面,通过动态补偿算法消除头皮和颅骨吸收光的干扰,并针对组织光学特性的变化进行自动调整,以提高NIRS在广泛的年龄和生理状况下的准确性^[52]。

Litscher等^[53]应用NIRS对12名受试者在针刺前、针刺过程中与针刺结束后的脑血氧饱和度进行监测,结果发现针刺治疗期间以及针刺结束后右侧大脑动脉的血氧饱和度高于针刺前,这说明针刺可以调控大脑的氧代谢水平。Litscher等^[54]监测了针刺合谷穴前后大脑的血流动力学变化,结果发现在插入针头并进行约20s的刺激后大脑的氧合血红蛋白浓度显著降低,而脱氧血红蛋白浓度升高。为了研究“得气”现象(即患者接受针刺时,在进针的地方感到酸胀、沉重的感觉)与大脑活动之间的联系,Takamoto等^[55]采用NIRS观察了受试者在接受穴位与非穴位针刺刺激后大脑不同脑区的血流动力学变化,结果发现:对穴位进行针刺刺激能够显著降低辅助运动区(SMA)、辅助运动前区和前背额叶皮层的氧合血红蛋白浓度,此时受试者普遍可感受到较强的针感;对非穴位进行针刺刺激后,这些脑区氧合血红蛋白浓度的变化幅度较低。该研究不仅揭示了“得气”与脑区变化之间的联系,还进一步说明了穴位具有特异性。

目前用于治疗肌肉骨骼类疾病的针刺方法多以组穴治疗为主,即多个穴位协同针刺,然而目前缺少关于组穴针刺对肌肉氧合指数影响的研究,未来的工作可围绕组穴治疗与电针疗法的研究展开。目前的研究已经充分说明NIRS在脑部血流动力学响应研究方面的广阔前景。NIRS具有良好的经济性、更高的便利性与安全性,适合临床上实时观察目标区域血流动力学参数的变化,帮助医务人员对治疗效果作出有效评估。

3.2 针刺治疗机制的研究

作为一种非药物疗法,针刺已被广泛应用于各种神经类疾病的治疗。利用NIRS观察不同脑区的血流动力学变化,能够更好地评估针刺的疗效。目前,NIRS在研究轻度认知损害(MCI)、帕金森病(PD)、抑郁症等神经疾病的针刺治疗效果方面取得了一定进展。

Ghafoor等^[56]运用功能性近红外光谱仪(fNIRS)研究了针刺对MCI患者大脑的影响,在对12名患有

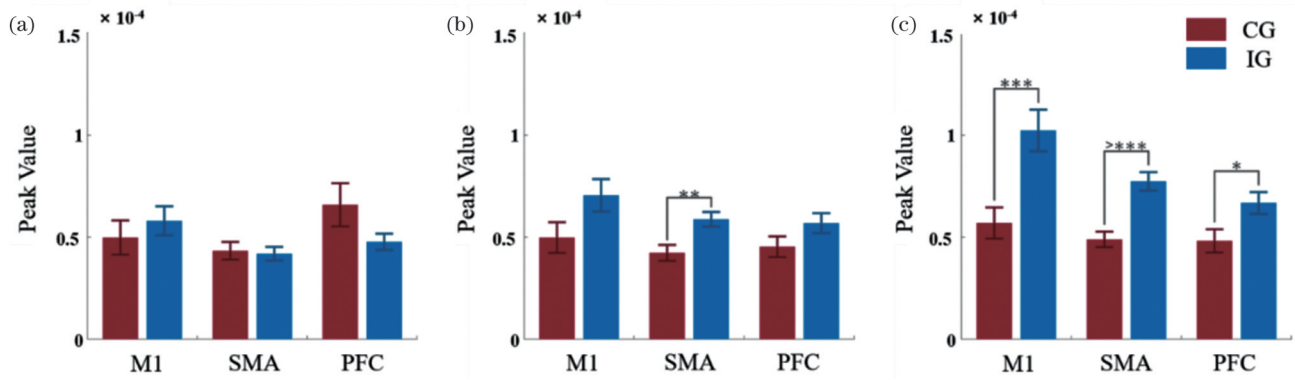
MCI的老人进行24个疗程的针刺治疗后发现:被试前额叶皮质的血流动力学响应更加明显,前额叶皮质的功能连接得到了大幅提升。Khan等^[57]采用fNIRS监测MCI患者在接受针刺治疗前后大脑执行工作记忆任务期间前额叶皮层中的氧合血红蛋白与脱氧血红蛋白信号,结果发现在接受长期针刺治疗后,MCI患者脑血流动力学反应的时间特征与健康受试者相当。这充分说明针刺可以有效治疗MCI。

Zeng课题组^[58]利用fNIRS评估了头皮针刺联合簇针治疗脑卒中患者认知障碍的疗效。他们将56例脑卒中患者随机分为仅接受药物治疗的参照组以及在药物治疗基础上加团簇头皮针刺的治疗组,并比较了两组患者在治疗前后的认知功能与脑血红蛋白水平。结果表明:与单纯药物治疗相比,在药物治疗的基础上应用簇针头皮针刺能显著改善患者的认知功能,同时可以提高脑血红蛋白水平。该研究结果说明簇针头皮针刺是治疗脑卒中患者认知障碍症状的有效方法。

Lee等^[59]采用fNIRS评估了针刺对PD患者步态相关的脑功能的影响,结果如图3所示。研究人员将24例PD患者分为治疗干预组(每周接受两次针刺治疗,连续进行4周)与对照组(不接受针刺治疗),在基线期(0周)进行了采用嵌段设计的fNIRS实验,并进行了4周和8周的随访,评估了皮层的激活和连通性。结果发现:PD患者接受针刺治疗后,干预组中的初级运动皮层(M1)、辅助运动区(SMA)和前额叶皮层(PFC)的氧合血红蛋白水平显著升高;干预组进行针灸治疗后,M1和PFC区域的连通性增加。该研究结果表明针刺可能是PD患者步态障碍的有效补充疗法。

Zhang等^[60]通过fNIRS观察了针刺对创伤后应激障碍(PTSD)大鼠脑内血氧浓度的影响,结果发现针刺可以显著降低PTSD大鼠脑内氧合血红蛋白的浓度,说明针刺对于PTSD具有一定的调节作用。

近年来,fNIRS已逐渐成为传统脑功能成像技术(如fMRI)的重要补充,其较小的尺寸使其探头能够在针刺时直接放置在针刺部位附近进行实时测量,而不会像fMRI或者PET那样受空间的限制。由于颅骨以及人体呼吸、心跳等因素的影响,fNIRS的信号质量一直无法达到理想状态,而且不同区域的血氧信号变化存在延迟,这是目前采用fNIRS研究针刺脑效应时面临的重大问题。刘东远等^[61]提出了基于长短期记忆(LSTM)神经网络的fNIRS滤波方法,该方法可使噪声比(CNR)提升2倍,均方根误差(RMSE)降低50%,空间保真度(DF)提升30%,可以有效抑制生理干扰和随机噪声。同时,该方法很好地解决了fNIRS脑功能成像时不同区域血氧信号变化存在延时的问题,可以精准测量针刺治疗时的大脑动力学响应,将来可用于临床上研究单一穴位以及多穴位协同针刺时的脑效应,或用于实时监测针刺疗效。



Notes: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

图3 每个阶段对照组(CG)和干预组(IG)之间的组平均血流动力学响应峰值比较^[59]。(a) 第一阶段(0周);(b) 第二阶段(4周);(c) 第三阶段(8周)

Fig. 3 Comparison of peak values of group average hemodynamic response between CG and IG for each phase^[59]. (a) The first phase (0 week); (b) the second phase (4 weeks); (c) the third phase (8 weeks)

4 PAI在针刺研究中的应用

PAI主要利用光声效应,通过收集生物样品上的光声信号进行成像。该技术结合了声学成像与光学成像的优势,既具有光学成像的高分辨率、高对比度优势,又具有声学成像的穿透力,可以轻松突破传统光学成像技术1 mm的深度限制^[62]。氧合血红蛋白与脱氧血红蛋白在532 nm波长处具有较高的摩尔消光系数,可以作为天然的造影剂,所以多数情况下PAI不借助造影剂就可以对生物组织的微血管结构进行成像。此外,PAI没有辐射危险,具有较高的生物安全性。除了可以对生物组织进行成像外,PAI还能获取血管中血红蛋白浓度、血氧饱和度以及血管密度等信息,非常适合高频次、长时间检测,例如可以对小动物烧伤组织边界进行确定^[63]以及对肥胖模型中的棕色脂肪组织进行成像^[64]。因此,PAI十分适合用于研究针刺过程中局部微环境的变化^[65]。PAI可分为光声断层成像(PACT)与光声显微成像(PAM)。PACT具有较强的穿透力与较大的像场,适用于研究针刺疗法对大脑功能的影响。PAM具有较高的横向分辨率,适用于研究针刺对浅层皮下组织微血管环境的影响^[66-67];同时,PAM具有较高的空间分辨率,因此还适用于对局部血管组织进行扫描^[68]。近年来,PAI已逐步应用于临床研究。2018年,Lin等^[69]开发了单呼吸屏气人体乳腺光声断层成像系统,该系统实现了4 cm的高穿透深度和255 μm 的空间分辨率。该系统采集一幅乳腺三维图像仅用时15 s,并且消除了呼吸等动作产生的运动伪影,标志着PAI已经正式进入到临床应用阶段。此外,在人体四肢血管网络^[70]、皮肤组织病理学研究^[71-72]以及人体关节成像方面,PAI均已实现了临床转化。目前,PACT与PAM在小动物针刺模型研究方面均取得了一定成果。

4.1 穴位敏化的光声成像

在穴位研究中,穴位的敏化现象具有较高的临床研究价值。穴位敏化意味着身体出现了病变,是体表疾病活动的反映。穴位的敏化往往与其局部血流灌注水平的变化有关,而多数穴位恰好是人体表面毛细血管网络最丰富的部位,但受限於穴位处微血管的微小结构,大多数成像手段难以实现穴位处的高分辨微血管结构成像。2019年,Ding等^[73]采用PAM研究了膝关节骨关节炎小鼠模型中穴位敏化与微循环结构改变之间的关联,结果如图4所示。他们通过采集、对比不同时段足三里穴、阳陵泉穴(GB34)与非穴位处微血管的结构图发现,它们在微血管密度、血管直径分布和曲折度方面没有显著差异。该研究不仅在体内穴位成像方面取得了实质性突破,还为穴位敏化的高分辨率成像奠定了坚实的科学基础。穴位敏化现象可作为治疗相应疾病时穴位选取的参考标准。通过PAI观察穴位的微循环结构,判断其是否敏化,可为今后的针刺治疗提供有效的指导依据。目前,PAI对于四肢的成像研究大多是基于动物模型进行的。2015年,Xi等^[74]采用PAI实现了人体关节的三维结构成像;2017年,Jo等^[75]采用PAI研究了人体的类风湿性关节炎。这预示着PAI对于人体四肢以及关节的成像已经进入了临床阶段,未来PAI有望被应用于针刺治疗人体肌肉骨骼疾病的研究中。

4.2 针刺的脑效应研究

血管内的血红蛋白可以作为天然的造影剂,因此PAI可以很好地监测大脑皮质中的血红蛋白浓度与脑血容量的变化,反映特定脑区的代谢情况,适用于观测针刺带来的脑效应。

2015年,Li等^[76]基于PACT观察了针刺小鼠涌泉穴时小鼠脑部结构图与脑部血流动力学变化,结果发现针刺涌泉穴能够增强脑血容量(CBV)。同年,Chen等^[77]采用PACT研究了针刺对大脑血流灌注不足的影

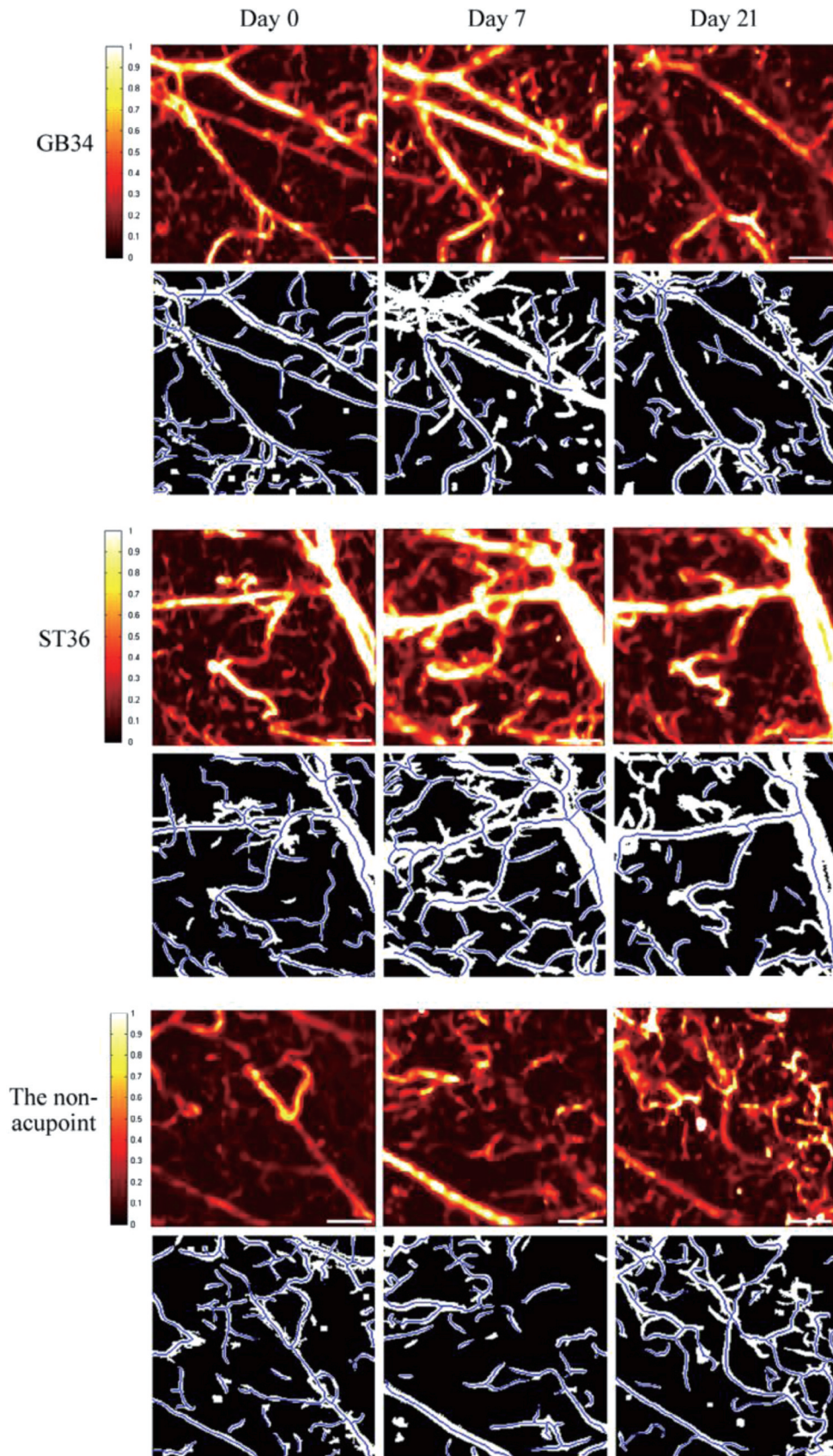


图 4 膝关节炎组中阳陵泉穴(GB34)、足三里穴(ST36)和非穴位部位的最大振幅投影以及相应的计算血管中心线与OR-PAM图像的叠加(比例尺为 200 μm)^[73]

Fig. 4 Maximum amplitude projection (MAP) and corresponding computed vascular centerlines overlaid with segmented volumetric optical-resolution photoacoustic microscopy (OR-PAM) images of GB34, ST36 and non-acupoint sites in the osteoarthritis group (scale bar is 200 μm)^[73]

响, 研究结果如图 5 所示。他们对小鼠的颈动脉进行结扎, 使其左侧脑部的血流灌注大幅降低; 当针刺左侧或右侧阳陵泉穴时, 大脑动脉(MCA)中的总血红蛋白浓度(HbT)显著增加, 并且总血红蛋白浓度的增加幅度比脑血流量(CBF)的增加幅度更明显, 同时总血红蛋白浓度增加能够维持更长时间, 大约能维持 15 min。此外, 通过大脑的光声图还能发现针灸可以导致大脑皮

层新血管的生成, 并可使血管直径增大, 这可能有助于缓解血管闭塞并改善脑灌注不足的血液供应。

2017年, Yang等^[78]运用PAM观察了针刺小鼠足三里穴后的脑部变化, 观察到了运动相关区域(M1和M2)在针刺治疗期间与治疗之后光声信号会发生显著变化; 而M1、M2与S1区域密切连接, 这说明针刺可能通过调控疼痛相关的神经来缓解疼痛。

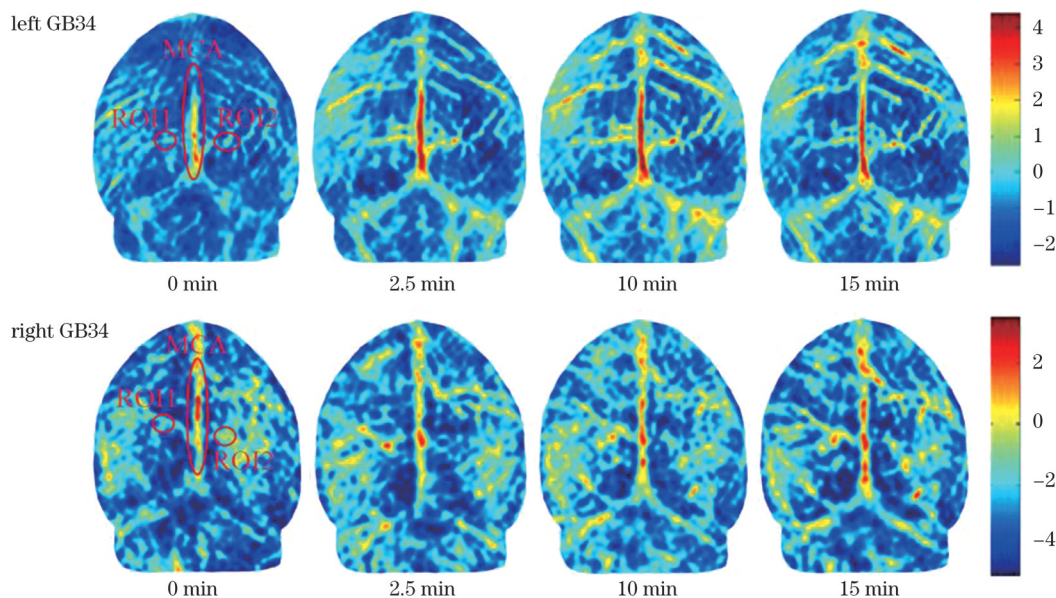


图 5 代表性正常小鼠在针刺左侧或右侧阳陵泉穴(GB34)时的脑 PAT 图像, 其中图像在不同的时间点给出, 色阶表示光声信号的相对强度^[77]

Fig. 5 PAT images of brain under acupuncture on the left or right GB34 point for a representative normal mouse, where the images are given at different time points and the color scale indicates relative strength of photoacoustic signal^[77]

以金纳米棒、吲哚菁绿(ICG)等为代表的外源性光声分子探针能够有效增大特定部位的信号强度, 解决PAI在追踪部分生物活动进程中背景噪声大、穿透力不足的问题, 同时还具有较高的安全性。针刺疗法本身也可以作为提供脑功能光声成像质量的辅助手段进一步提高分子探针的作用。由于针刺疗法可以显著提高CBV与局部血红蛋白浓度, 进而增强脑部的PAI信号, 增大对比度与灵敏度, 故而适合作为辅助手段与光学探针搭配。2019年, Wu等^[79]将聚乙二醇涂层金纳米棒(PEG-GNRs)作为造影剂, 研究了针刺足三里穴对脑部血流动力学参数的影响, 并利用GNR的强近红外吸收能力获得了高对比度的PACT图像。Wu等对实验结果进行分析后认为: 在针刺作用下, 大脑中的血红蛋白浓度显著增加, 图像对比度明显提高。该实验揭示了针刺疗法在脑功能成像中具有大幅提高图像对比度的作用。在未来的神经学领域研究中, 可以用针刺疗法辅助各类光学探针, 提高成像灵敏度和图像质量。

目前, PAI面临的主要问题是其成像需要借助超声凝胶或者水等耦合介质才能实现。由于光声信号

在空气中的衰减较为严重, 所以传统的PAI要求将待测表面与超声换能器一同置于与生物组织声阻抗相近的耦合液中, 这可能会导致针刺疗法操作不便, 甚至存在针口感染的风险。近年来, 随着非接触PAI技术的快速发展, 该技术已经可以在非接触条件下实现高灵敏度、大带宽的光声信号接收, 因此逐渐成为当前PAI的重要发展方向之一。目前主流的非接触PAI可分为空气耦合式、光学相干式与光学非相干式成像, 其中空气耦合式非接触PAI以简单、稳定的系统构架在术中成像、人类皮肤成像方面具有巨大的应用潜力, 可在临床上用于采集针刺过程中皮肤不同点位的光声信号, 在不使用耦合剂的情况下观察针刺部位附近皮肤血管形态与血流动力学参数的变化^[80]。将来若能发展出新型高灵敏度空气耦合超声探测设备, 突破超声探测灵敏度的限制, 非接触成像就会成为传统接触式PAI技术的有效扩充手段, 扩大PAI技术的应用范围, 并在针刺疗法临床研究领域大放异彩。

本文总结了上述不同成像技术的参数、特点与适用范围, 如表 1 所示。

表 1 不同光学成像技术的参数、特点与适用范围

Table 1 Technical parameters and characteristics of different optical imaging methods and their application scope

Technology	Space resolution	Time resolution	Penetration depth	Application scope
PAM	~5 μm	~2 s	2-3 mm	Structural imaging of microvessels; quantitative analysis of hemodynamic parameters
PACT	3-4 mm	~100 ms	≥ 40 mm	Functional and structural imaging of vascular in human muscles, viscera and other deep tissues
fNIRS	2 μm	≥ 40 ms	~20 mm	Detection of cerebral blood and brain dynamics response; verification of acupoint specificity
LSI	2-3 μm	≤ 10 ms	≤ 1 mm	Monitoring local tissue blood perfusion and measuring blood supply of lesion site in real-time

5 结束语

凭借高分辨率、高对比度和高安全性等特点,光学成像技术在针刺疗法的机制研究与疗效评估方面具有广阔的应用前景。

LDPI与LSI可用于实时测量特定部位的血流灌注,证实了针刺疗法可以显著提高治疗部位的血流量,具有“活血化瘀”的效果。LDPI与LSI还可以用于观察针刺疗法过程中内脏的血流灌注变化,验证经穴-脏腑相关性。目前,LDPI与LSI在针刺的微循环效应研究中仍然存在不足。在针刺的经穴-脏腑相关性研究中,受限于穿透深度,现在所有的LDPI与LSI研究均在小动物身上进行,难以在人体上展开研究。在针刺对人体内脏微循环效应的影响方面,可以将LDPI、LSI与PET等核医学影像手段结合起来展开研究,验证特定穴位是否与相关内脏的微循环之间存在特异性联系,在体表与内脏两个层面实现针刺的微循环效应研究。

采用NIRS技术可以监测局部血管的血流动力学参数,如氧合血红蛋白浓度和脱氧血红蛋白浓度等,实时获取针刺治疗期间以及治疗之后的血流动力学变化,反映局部的氧代谢情况。这些研究都充分说明针刺疗法可以加快局部新陈代谢,促进受损组织的修复并加快有害代谢废物的排出,对于肌肉骨骼疾病具有积极作用。目前的研究也充分说明了NIRS小尺寸探头可以突破空间的限制,十分适合临床上用于实时测量针刺过程中身体各部位皮下的血氧饱和度。fNIRS同样可以克服PET或fMRI空间限制的难题,用于研究针刺治疗过程中患者不同脑区的血氧变化情况。目前,利用fNIRS观察针刺的脑效应主要存在以下问题:1)易受人体颅骨以及人体呼吸效应等的影响,收集信号的质量较差;2)大脑不同区域的血氧信号变化存在延迟,无法精确地反映针刺对不同脑区的影响。未来若能够改进滤波算法,抑制生理干扰和随机噪声,并改善信号延时问题,再结合探头体积小、经济性和安全性高的特点,fNIRS可用于临床上研究、对比单穴位与组穴针刺时脑部的血流动力学效应,形成针刺治疗的有效指导体系,或者用于临床上实时监测针刺的疗效。

PAI结合了光学成像与声学成像的优势,在具备较高分辨率与对比度的同时还具有一定的穿透力,能够轻易突破传统光学成像1 mm的穿透深度极限,并且在获取组织图像的同时还能监测组织的血容量、血红蛋白浓度、血氧饱和度等指标,实现结构性成像与功能性成像的一体化。目前,大多数PAM已经可以达到5 μm 的横向分辨率,能够对针刺时的穴位敏化以及局部微血管形态进行观察;用于人体成像的PACT的分辨率达到了40 μm ,而且还能实现穿透深度超过4 cm的快速成像。随着PCI技术在临床应用上的普及,未来的PACT定能在较大的成像视野与成像深度上实现针刺时人体肌肉组织内血管形态与局部血流动力学参数变化的监测。相比于LDPI与LSI,PAI具有更高的穿透深度和对比度;相比于fNIRS,PAI具有更高的空间分辨率,能够实现小范围内更加精准的定量测量。然而,相比于非接触测量的LSI技术,目前的PAI在针刺疗法研究中存在的主要缺点是需要借助耦合剂才能实现成像,在体表实施针刺时难以实现实时监测。随着空气耦合式PAI技术的发展,该技术定能够克服传统PAI成像环境的限制,在针刺对局部组织微环境影响的临床研究上发挥巨大作用。

尽管光学成像在中医理疗的机制研究与疗效评估方面取得了一定进展,但仍存在一定的局限性。人体的经络系统十分复杂,穴位数量更是接近400个,而目前的大多数研究只选取了部分穴位(如阳陵泉穴、足三里穴)进行研究,对同时刺激多个穴位的组合治疗所产生的变化,以及人体表每一穴位所能激活的脑区等,还需要开展更多工作,从而逐步完善人体穴位、经络的治疗体系。在今后的研究中,若能继续发挥光学成像的优势,同时结合其他不同的成像方式,例如结合fMRI,对针刺的脑效应展开研究,或者结合PET监测针刺疗法对体内各部位能量代谢与受体表达的影响,一定能够进一步揭示中医针刺疗法的治疗机制,并形成完整的指导体系,使更多患者受益。

参 考 文 献

- [1] Koes B W, van Tulder M W, Thomas S. Diagnosis and treatment of low back pain[J]. BMJ, 2006, 332(7555): 1430-1434.

- [2] Qin Z S, Zang Z W, Wu J N, et al. Efficacy of acupuncture for chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndromes: study protocol for a randomized, sham acupuncture-controlled trial[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2016, 16(1): 440.
- [3] 张永红, 吴婷, 沈威, 等. 基于超声弹性成像的浮针颈肩部疼痛患肌厚度及弹性的影响[J]. 中国针灸, 2020, 40(9): 939-941.
Zhang Y H, Wu T, Shen W, et al. Effect of Fu's subcutaneous needling on thickness and elasticity of affected muscles in shoulder neck pain based on ultrasonic elastography[J]. Chinese Acupuncture & Moxibustion, 2020, 40(9): 939-941.
- [4] Wang I L, Chen Y M, Hu R, et al. Effect of acupuncture on muscle endurance in the female shoulder joint: a pilot study[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2020, 2020: 9786367.
- [5] Joo Y B, Park K S. Gold thread acupuncture for rheumatoid arthritis[J]. The New England Journal of Medicine, 2017, 377(19): e27.
- [6] Xu M, Li D, Zhang S, et al. Acupuncture for acute stroke[J]. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2018, 49(7): e237-e238.
- [7] Angus-Leppan H. Manual acupuncture for migraine[J]. BMJ, 2020, 368: m1096.
- [8] Ellis C T, Skalaban L J, Yates T S, et al. Re-imagining fMRI for awake behaving infants[J]. Nature Communications, 2020, 11: 4523.
- [9] Kay K, Jamison K W, Zhang R Y, et al. A temporal decomposition method for identifying venous effects in task-based fMRI[J]. Nature Methods, 2020, 17(10): 1033-1039.
- [10] Finn E S, Huber L, Bandettini P A. Higher and deeper: bringing layer fMRI to association cortex[J]. Progress in Neurobiology, 2021, 207: 101930.
- [11] Farhadi A, Ho G H, Sawyer D P, et al. Ultrasound imaging of gene expression in mammalian cells[J]. Science, 2019, 365(6460): 1469-1475.
- [12] Lumish M A, Maron S B, Paroder V, et al. Imaging HER2-positive metastatic esophagogastric cancer with ⁸⁹Zr-trastuzumab PET and ¹⁸F-FDG PET[J]. Journal of Clinical Oncology, 2021, 39(15): 4068.
- [13] Stortz G, Thiessen J D, Bishop D, et al. Performance of a PET insert for high-resolution small-animal PET/MRI at 7 tesla[J]. Journal of Nuclear Medicine, 2018, 59(3): 536-542.
- [14] Sonka M, Abrámov M D. Quantitative analysis of retinal OCT[J]. Medical Image Analysis, 2016, 33: 165-169.
- [15] 穆书奇, 董大山, 施可彬. 无标记光学成像技术[J]. 激光与光电子学进展, 2022, 59(12): 1200001.
Mu S Q, Dong D S, Shi K B. Label-free optical imaging technology[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2022, 59(12): 1200001.
- [16] Fahy E J, Lavin C, Abbas D, et al. Temperature influence on scanning laser Doppler flowmetry in anesthetized mice[J]. Journal of the American College of Surgeons, 2021, 233(5): e157.
- [17] Bou E, Ly A, Roul J, et al. Compact system for *in situ* laser Doppler velocimetry of blood flow[J]. Biomedical Optics Express, 2019, 10(11): 5862-5876.
- [18] Uchida S, Kagitani F. Effect of acupuncture-like stimulation on cortical cerebral blood flow in aged rats[J]. The Journal of Physiological Sciences, 2015, 65(1): 67-75.
- [19] Kim J H, Choi K H, Jang Y J, et al. Electroacupuncture acutely improves cerebral blood flow and attenuates moderate ischemic injury via an endothelial mechanism in mice[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e56736.
- [20] Takayama S, Watanabe M, Kusuyama H, et al. Evaluation of the effects of acupuncture on blood flow in humans with ultrasound color Doppler imaging[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012, 2012: 513638.
- [21] Tian Y Y, Wang G J, Huang T, et al. Impacts on skin blood flow under moving cupping along meridians in different directions[J]. Chinese Acupuncture & Moxibustion, 2013, 33(3): 247-251.
- [22] Emmanuel A V, Kamm M A. Laser Doppler measurement of rectal mucosal blood flow[J]. Gut, 1999, 45(1): 64-69.
- [23] Petrig B L, Riva C E, Hayreh S S. Laser Doppler flowmetry and optic nerve head blood flow[J]. American Journal of Ophthalmology, 1999, 127(4): 413-425.
- [24] Wang R K, Zhang Q Q, Li Y D, et al. Optical coherence tomography angiography-based capillary velocimetry[J]. Journal of Biomedical Optics, 2017, 22(6): 066008.
- [25] Ruaro B, Pizzorni C, Trombetta A C, et al. OP0128 evaluation of peripheral blood perfusion by laser speckle contrast analysis in systemic sclerosis patients treated with aminaphtone[J]. Annals of the Rheumatic Diseases, 2016, 75(Suppl 2): 104.
- [26] Kong P, Cao Y J, Xu C W, et al. Detection of the therapeutic effect of acupuncture by laser speckle blood perfusion imaging[J]. Optik, 2018, 172: 1155-1161.
- [27] Kwon S, Lee Y, Park H J, et al. Coarse needle surface potentiates analgesic effect elicited by acupuncture with twirling manipulation in rats with nociceptive pain[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2017, 17(1): 1-10.
- [28] Kim K W, Hong S, Kim H S, et al. Physiological impact of nanoporous acupuncture needles: laser Doppler perfusion imaging in healthy volunteers[J]. PLoS One, 2019, 14(12): e0226304.
- [29] Uchida S, Hotta H. Acupuncture affects regional blood flow in various organs[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2008, 5: 843831.
- [30] Zhang D, Li S Y, Wang S Y, et al. Evaluation of influence of acupuncture and electro-acupuncture for blood perfusion of stomach by laser Doppler blood perfusion imaging[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2011, 2011: 969231.
- [31] Wang S Y, Zhang D, Tang L M, et al. Effects of electroacupuncture stimulation at "Zusanli" acupoint on hepatic NO release and blood perfusion in mice[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015, 2015: 826805.
- [32] Wu M T, Sheen J M, Chuang K H, et al. Neuronal specificity of acupuncture response: a fMRI study with electroacupuncture[J]. NeuroImage, 2002, 16(4): 1028-1037.
- [33] Zhang J H, Cao X D, Lie J, et al. Neuronal specificity of needling acupoints at same meridian: a control functional magnetic resonance imaging study with electroacupuncture[J]. Acupuncture & Electro-Therapeutics Research, 2007, 32(3/4): 179-193.
- [34] Na B J, Jahng G H, Park S U, et al. An fMRI study of neuronal specificity of an acupoint: electroacupuncture stimulation of Yanglingquan (GB34) and its sham point[J]. Neuroscience Letters, 2009, 464(1): 1-5.
- [35] Li L L, Liu X W, Wu F, et al. Electroacupuncture stimulation of language-implicated acupoint Tongli (HT 5) in healthy subjects: an fMRI evaluation study[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2018, 24(11): 822-829.
- [36] Litscher G, Wang L, Huber E, et al. Changed skin blood perfusion in the fingertip following acupuncture needle introduction as evaluated by laser Doppler perfusion imaging[J]. Lasers in Medical Science, 2002, 17(1): 19-25.
- [37] Zhang W B, Wang L L, Xie H H, et al. Comparison of acupuncture effect on blood perfusion between needling nonacupoint on meridian and needling nonacupoint off meridian[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 2013: 426052.
- [38] Hsiu H, Huang S M, Chao P T, et al. Microcirculatory characteristics of acupuncture points obtained by laser Doppler flowmetry[J]. Physiological Measurement, 2007, 28(10): N77-N86.
- [39] Gao Y C, Lin W P, Zhou S S, et al. Treatment of rosacea using acupuncture for improving the local skin microcirculation: a case report[J]. Medicine, 2018, 97(34): e11931.
- [40] Vanzini M, Gallimini M. Laser acupuncture in open-angle glaucoma treatment: a retrospective study of eye blood flow[J].

- Journal of Acupuncture and Meridian Studies, 2020, 13(2): 40-47.
- [41] Blom M, Lundeberg T, Dawidson I, et al. Effects on local blood flux of acupuncture stimulation used to treat xerostomia in patients suffering from Sjögren's syndrome[J]. Journal of Oral Rehabilitation, 1993, 20(5): 541-548.
- [42] 白晓东. 电针对急性酒精肝损伤血流灌注、肝脏代谢及血管调控物质的影响[D]. 北京: 中国中医科学院, 2014.
Bai X D. The research of effectiveness of electric acupuncture on blood perfusion, metabolism and vasoactive substances on acute alcoholic liver injury mice[D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2014.
- [43] 文梅, 李顺月, 王淑友, 等. 电针对不同时间段酒精性肝损伤小鼠的干预作用[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(6): 2114-2117.
Wen M, Li S Y, Wang S Y, et al. Intervention effect of electroacupuncture on alcoholic liver mice in different time periods[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2015, 30(6): 2114-2117.
- [44] Min S, Lee H, Kim S Y, et al. Local changes in microcirculation and the analgesic effects of acupuncture: a laser Doppler perfusion imaging study[J]. Journal of Alternative and Complementary Medicine, 2015, 21(1): 46-52.
- [45] Scholkmann F, Kleiser S, Metz A J, et al. A review on continuous wave functional near-infrared spectroscopy and imaging instrumentation and methodology[J]. NeuroImage, 2014, 85: 6-27.
- [46] Munk N, Symons B, Shang Y, et al. Noninvasively measuring the hemodynamic effects of massage on skeletal muscle: a novel hybrid near-infrared diffuse optical instrument[J]. Journal of Bodywork and Movement Therapies, 2012, 16(1): 22-28.
- [47] Gao C Y, Wang M, He L, et al. Alternations of hemodynamic parameters during Chinese cupping therapy assessed by an embedded near-infrared spectroscopy monitor[J]. Biomedical Optics Express, 2019, 10(1): 196-203.
- [48] Leow M Q H, Cui S L, Cao T G, et al. Measuring the effects of acupuncture on muscle stiffness with shear wave elastography[J]. Acupuncture in Medicine, 2017, 35(4): 304-306.
- [49] Itoh K, Minakawa Y, Kitakoji H. Effect of acupuncture depth on muscle pain[J]. Chinese Medicine, 2011, 6(1): 24.
- [50] Kimura K, Ryujin T, Uno M, et al. The effect of electroacupuncture with different frequencies on muscle oxygenation in humans[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015, 2015: 620785.
- [51] Hou L, Liu Y Q, Qian L X, et al. Portable near-infrared technologies and devices for noninvasive assessment of tissue hemodynamics[J]. Journal of Healthcare Engineering, 2019, 2019: 3750495.
- [52] Kovacsova Z, Bale G, Mitra S, et al. Absolute quantification of cerebral tissue oxygen saturation with multidistance broadband NIRS in newborn brain[J]. Biomedical Optics Express, 2021, 12(2): 907-925.
- [53] Litscher G, Wang L, Huber E. Changes in cerebral near infrared spectroscopy parameters during manual acupuncture needle stimulation[J]. Biomedical Engineering, 2002, 47(4): 76-79.
- [54] Litscher G, Schwarz G, Sandner-Kiesling A, et al. Effects of acupuncture on the oxygenation of cerebral tissue[J]. Neurological Research, 1998, 20(sup1): S28-S32.
- [55] Takamoto K, Hori E, Urakawa S, et al. Cerebral hemodynamic responses induced by specific acupuncture sensations during needling at trigger points: a near-infrared spectroscopic study[J]. Brain Topography, 2010, 23(3): 279-291.
- [56] Ghafoor U, Lee J H, Hong K S, et al. Effects of acupuncture therapy on MCI patients using functional near-infrared spectroscopy [J]. Frontiers in Aging Neuroscience, 2019, 11: 237.
- [57] Khan M N A, Ghafoor U, Yoo H R, et al. Acupuncture enhances brain function in patients with mild cognitive impairment: evidence from a functional-near infrared spectroscopy study[J]. Neural Regeneration Research, 2022, 17(8): 1850-1856.
- [58] Chen J, Li H, Zeng C, et al. Evaluation of the recovery outcome of poststroke cognitive impairment after cluster needling of scalp acupuncture therapy based on functional near-infrared spectroscopy [J]. Brain and Behavior, 2020, 10(8): e01731.
- [59] Lee S H, Park S S, Jang J H, et al. Effects of acupuncture treatment on functional brain networks of Parkinson's disease patients during treadmill walking: an fNIRS study[J]. Applied Sciences, 2020, 10(24): 8954.
- [60] Zhang Y F, Han Y D, Zhao Z T, et al. Effect of acupuncture on blood oxygen concentration in brain of rats with post-traumatic stress disorder based on functional near-infrared spectroscopy[J]. Journal of Acupuncture and Tuina Science, 2019, 17(1): 9-15.
- [61] 刘东远, 张耀, 刘洋, 等. 基于 LSTM 循环神经网络的 fNIRS 脑功能成像滤波方法[J]. 中国激光, 2021, 48(19): 1918007.
Liu D Y, Zhang Y, Liu Y, et al. LSTM-based recurrent neural network for noise suppression in fNIRS neuroimaging: network design and pilot validation[J]. Chinese Journal of Lasers, 2021, 48(19): 1918007.
- [62] Hu S, Maslov K, Wang L V. Second-generation optical-resolution photoacoustic microscopy with improved sensitivity and speed[J]. Optics Letters, 2011, 36(7): 1134-1136.
- [63] Wu Z Y, Duan F, Zhang J D, et al. *In vivo* dual-scale photoacoustic surveillance and assessment of burn healing[J]. Biomedical Optics Express, 2019, 10(7): 3425-3433.
- [64] Chen R H, Huang S S, Lin T T, et al. Photoacoustic molecular imaging-escorted adipose photodynamic - browning synergy for fighting obesity with virus-like complexes[J]. Nature Nanotechnology, 2021, 16(4): 455-465.
- [65] Wong T T W, Zhang R Y, Zhang C, et al. Label-free automated three-dimensional imaging of whole organs by microtomy-assisted photoacoustic microscopy[J]. Nature Communications, 2017, 8: 1386.
- [66] Ahn J, Kim J Y, Choi W, et al. High-resolution functional photoacoustic monitoring of vascular dynamics in human fingers[J]. Photoacoustics, 2021, 23: 100282.
- [67] Liba O, de la Zerda A. Photoacoustic tomography: breathtaking whole-body imaging[J]. Nature Biomedical Engineering, 2017, 1: 75.
- [68] Yang J M, Gong L, Xu X, et al. Motionless volumetric photoacoustic microscopy with spatially invariant resolution[J]. Nature Communications, 2017, 8: 780.
- [69] Lin L, Hu P, Shi J H, et al. Single-breath-hold photoacoustic computed tomography of the breast[J]. Nature Communications, 2018, 9: 2352.
- [70] Wray P, Lin L, Hu P, et al. Photoacoustic computed tomography of human extremities[J]. Journal of Biomedical Optics, 2019, 24(2): 026003.
- [71] Zhou Y, Tripathi S V, Rosman I, et al. Noninvasive determination of melanoma depth using a handheld photoacoustic probe[J]. The Journal of Investigative Dermatology, 2017, 137(6): 1370-1372.
- [72] Nam S Y, Chung E, Suggs L J, et al. Combined ultrasound and photoacoustic imaging to noninvasively assess burn injury and selectively monitor a regenerative tissue-engineered construct[J]. Tissue Engineering Part C, Methods, 2015, 21(6): 557-566.
- [73] Ding N, Liu X X, Chen N B, et al. Lack of association between acupoint sensitization and microcirculatory structural changes in a mouse model of knee osteoarthritis: a pilot study[J]. Journal of Biophotonics, 2019, 12(6): e201800458.
- [74] Xi L, Jiang H B. High resolution three-dimensional photoacoustic imaging of human finger joints *in vivo*[J]. Applied Physics Letters, 2015, 107(6): 063701.
- [75] Jo J, Xu G, Cao M, et al. A functional study of human inflammatory arthritis using photoacoustic imaging[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 15026.
- [76] Li T T, Xu X L, Chen B Z, et al. Photoacoustic imaging of acupuncture effect in small animals[J]. Biomedical Optics Express,

- 2015, 6(2): 433-442.
- [77] Chen B Z, Yang J G, Wu D, et al. Photoacoustic imaging of cerebral hypoperfusion during acupuncture[J]. *Biomedical Optics Express*, 2015, 6(9): 3225-3234.
- [78] Yang J G, Wu D, Tang Y, et al. Photoacoustic microscopy of electronic acupuncture (EA) effect in small animals[J]. *Journal of Biophotonics*, 2017, 10(2): 217-223.
- [79] Wu D, Zhang X X, Rong J, et al. Photoacoustic molecular imaging using combined acupuncture and gold nanorods as a composite contrast agent[J]. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 2019, 12(3): 1941004.
- [80] 李娇, 李帅, 陈冀景, 等. 非接触光声成像研究进展及其在生物医学上的应用[J]. *中国激光*, 2021, 48(19): 1918005.
- Li J, Li S, Chen J J, et al. Progress and biomedical application of non-contact photoacoustic imaging[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2021, 48(19): 1918005.

Application of Optical Imaging for Studying Chinese Acupuncture: a Review

Xu Yue¹, Nie Liming^{2*}

¹*Center for Molecular Imaging and Translational Medicine, School of Public Health, Xiamen University, Xiamen 361102, Fujian, China;*

²*Optical Molecular Imaging Laboratory, Research Center of Medical Sciences, Guangdong Provincial People's Hospital, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510080, Guangdong, China*

Abstract

Significance Traditional Chinese physiotherapy, primarily represented by acupuncture and cupping, has been employed for thousands of years to treat musculoskeletal diseases and relieve pain symptoms. Acupuncture is popular worldwide owing to its remarkable curative efficacy and safety. However, the theory of traditional Chinese medicine fails to provide substantial scientific evidence to clarify the mechanisms underlying acupuncture treatment. Moreover, most acupuncture therapies lack effective scientific assessment during treatment, failing to ensure their efficacy and safety. Optical imaging can be used to propagate light in cells and tissues, combine various molecular probes to image organs, and safely obtain robust biological information. Optical imaging is optimal for observing the vascular structures of biological tissues, as well as for monitoring local hemodynamic changes. Optical imaging techniques employed to examine acupuncture primarily include laser Doppler blood perfusion imaging (LDPI), laser speckle imaging (LSI), near-infrared spectroscopy (NIRS), and photoacoustic imaging (PAI). Considerable progress has been made with regard to measuring hemodynamic effects, brain response, therapeutic mechanisms, and the curative effect of acupuncture. However, a systematic summary of these findings is lacking. This review helps readers in the field of traditional Chinese medicine to establish a comprehensive understanding of diverse optical imaging techniques and outline their recent advancements in acupuncture research.

Progress This review briefly introduces the characteristics of different types of optical imaging and their progress in assessing acupuncture. In addition, their limitations and development directions are summarized.

LDPI and LSI use non-contact data acquisition, with advantages such as non-invasiveness and rapid scanning and eliminating certain hidden dangers generated by contact imaging systems. Measuring the improvement in blood circulation at specific sites using LDPI and LSI can assess the efficacy of acupuncture and reveal its therapeutic mechanism. LDPI and LSI can be employed to measure blood flow perfusion of specific regions in real-time, observe changes in internal organs during acupuncture, and verify the correlation between meridians and internal organs. However, the shortcoming of LDPI and LSI should be noted. Owing to the limited penetration depth, research on acupoints and internal organs is only performed on small animals. To determine the microcirculation effect of acupuncture on human viscera, LDPI and LSI should be combined with nuclear medical imaging technologies such as PET.

NIRS probes can be easily attached to the skin surface owing to their small size. Currently, NIRS is employed to monitor real-time oxygen levels in the muscle and brain during acupuncture. Owing to its economic advantage, convenience, and safety, functional NIRS (fNIRS) is suitable for examining the changes in hemodynamic parameters in the target area in clinical practice, aiding therapists in effectively evaluating the treatment effects. In recent years, fNIRS has gradually been established as an important supplement to traditional brain functional imaging technologies [such as functional magnetic resonance imaging (fMRI)]. fNIRS has been primarily applied to verify the specificity of acupoints in specific brain regions. However, owing to the skull, human respiration, heartbeat, and other factors, the signal quality of fNIRS has failed to reach the ideal state, accompanied by delayed changes in blood oxygen signals in different regions; this presents a considerable challenge for examining the acupuncture-mediated brain effects using fNIRS. Future developments in fNIRS will focus on improving the filtering algorithm, suppressing physiological interference and random noise, and improving signal delay.

PAI combines the advantages of optical and acoustic imaging, easily surpassing the 1 mm penetration depth limit of traditional optical imaging and allowing simultaneous high-resolution and high-contrast imaging. PAI can also monitor blood volume, hemoglobin concentration, blood oxygen saturation, and other tissue indicators while determining structural images. PAI is primarily used to observe the sensitization of acupuncture points, changes in cerebral blood flow perfusion, and cerebral vascular morphology

during and after acupuncture. In addition, acupuncture can be used to assist various optical probes, thereby improving the sensitivity and contrast of PAI in the brain. However, traditional PAI requires a couplant to achieve imaging, which is unsuitable for acupuncture. In the future, with the development of air-coupled PAI technology, non-contact PAI will overcome the limitations of traditional PAI and play a role in clinical research assessing acupuncture.

Conclusions and prospects Herein, we summarized the characteristics of different optical imaging methods and their application scope (Table 1). Although optical imaging has facilitated the elucidation of underlying mechanisms and efficacy of traditional Chinese acupuncture therapy, some limitations are known to persist. As the meridian system of the human body is markedly complex, most current studies only select certain formal acupoints. Additional investigations are required to examine changes induced by simultaneously stimulating multiple acupoints and verify the specificity of each acupoint in the human body. In future research, scientists should continue exploiting optical imaging in combination with other imaging methods, such as fMRI or PET, to examine the acupuncture-mediated brain effects, as well as effects on energy metabolism and receptor expression in various regions of the body. This strategy would further reveal the therapeutic mechanism of acupuncture and establish complete guidance, which would benefit a large patient population.

Key words medical optics; acupuncture therapy; optical imaging; laser Doppler; laser speckle imaging; near-infrared spectroscopy; photoacoustic imaging