

活体小动物脓毒症肠道模型的光声内窥成像研究

陈小龍¹, 梁貽智^{1*}, 仲晓軒¹, 白雪¹, 金龙¹, 黄卫², 黄澄³, 牛晓兵⁴, 郭珊珊⁴, 关柏鷗¹¹暨南大学光子技术研究院广东省光纤传感与通信技术重点实验室, 广东 广州 511443;²暨南大学附属第一医院消化内科, 广东 广州 510632;³广东省人民医院广东省心血管病研究所, 广东 广州 510080;⁴广州信筑医疗技术有限公司, 广东 广州 510535

摘要 微循环功能是反映危重病人器官生理状态的关键指标,为确定后续治疗手段提供了重要依据。传统上采用显微镜等手段观察体表微循环状态,但仅能获得组织毛细血管的空间形态,获取的功能性信息有限,难以满足临床需求。针对肠道内微循环监测需求构建了小型化光纤光声内窥镜,将成像探头伸入活体小动物直肠内以旋转扫描的方式进行内窥成像。在扫描过程中通过逐点探测由激光脉冲在生物体内激发出的超声波,能够获得消化道内壁血管空间分布;基于动静脉血在光学吸收谱上的差异,采用双波长激发获得了血氧饱和度的空间分布。基于数小时的连续监测,发现小动物患脓毒症后直肠内壁血管结构与血氧饱和度均发生明显变化。实验结果表明,该技术能够以无创方式表征典型微循环疾病模型的功能性变化,为微循环的无创监测提供了一种新的技术途径。

关键词 生物医学; 光声成像; 光声内窥镜; 超声传感器; 光纤传感器; 微循环障碍

中图分类号 R319; TH744

文献标志码 A

DOI: 10.3788/CJL221450

1 引言

微循环是指微动脉与微静脉之间毛细血管中的血液循环,是供氧端(血液)与耗氧端(组织细胞)之间进行物质交换的途径。人体通过微循环输送营养物质、清除代谢产物,从而维持正常的组织生理功能^[1-3]。一旦微循环功能发生异常,将会出现循环衰竭或休克,导致氧输送或摄取不足,引起组织功能障碍,进而危及患者生命^[4-7]。特别是对于危重症患者,微循环中血流量、血氧饱和度等指标能够反映其组织灌注情况和机体血液动力学的异常变化,为临床诊断提供了重要的科学依据^[8]。现有技术通常对舌下微循环进行显微成像,但该方案仅能观察血管结构,无法提供血流速度、血氧饱和度等功能信息^[9];另一方面,相比于舌下,消化道血管更能准确指征微循环状态,但缺乏相应的成像手段^[10]。如果能通过影像学手段对肠道内壁的微循环进行观察,就能够为急重症患者提供宝贵信息,助力制定最佳救治方案。因此,发展小型化、高空间分辨率、兼具结构与功能成像能力的消化道内窥镜技术具有重要意义。

光声成像是近年来发展起来的一种新型医学成像技术,它通过探测由脉冲激光在生物体内激发出的超声波来进行成像^[11-21]。光声成像的对比度来源于血红蛋白的内源性吸收^[22],能够清晰获得诸如小鼠脑皮层等生物组织的血管结构^[23];利用不同血氧饱和度下血红蛋白在吸收谱上的差异,通过选择两个或多个不同激发波长就能获得脱氧/氧合血红蛋白在血液中的浓度,进而计算出血氧饱和度^[24-28]。将光声成像装置压缩在小型化探头中,能够对食道、胃、直肠等消化道进行内窥成像^[29-30]。但探头内光学与超声器件尺寸受限,光声内窥成像难以兼顾高空间分辨率和高灵敏度,其成像能力与体外光声成像相比具有较大差距,现有光声内窥镜技术难以满足肠道微循环的功能成像需求。

针对上述问题,本文构建了光纤光声内窥镜,并对活体小动物直肠的微循环状态进行了高空间分辨率成像。该内窥镜直径仅为 2.75 mm,内部包含两根功能光纤:一根负责对脉冲激光进行引导和聚焦,另一根内置激光超声传感器,用于对光致超声信号进行探测。利用探头进行 360°螺旋扫描,获得小动物肠道血管的

收稿日期: 2022-11-24; 修回日期: 2023-01-11; 录用日期: 2023-01-12; 网络首发日期: 2023-02-07

基金项目: 国家自然科学基金(62135006, 62122031, 62275104, 62205125)、“广东特支计划”本土创新团队项目(2019BT02X105)、广州市科技计划项目(202102080197)、暨南大学科研培育与创新基金交叉专项(21621104)、广东省自然科学基金(2022A1515010908)

通信作者: *liangyizhi88528@gmail.com

空间分布,结合双波长光声激发获得了血氧饱和度的分布信息。利用该技术观察到脓毒症模型下血管数量减少、血氧饱和度明显下降。实验结果表明,本文提出的技术能够有效监测肠道内微循环的异常变化,有望为微循环障碍与心脑血管重症救治提供一种新的影像学手段。

2 内窥成像系统构建

图 1(a)所示为光声内窥成像系统,系统包含内窥成像探头、双波长激发光源、旋转扫描装置及数据采集与控制模块等。我们采用两台纳秒激光器进行光声激发,利用有氧、脱氧血红蛋白在光学吸收谱上的差异,

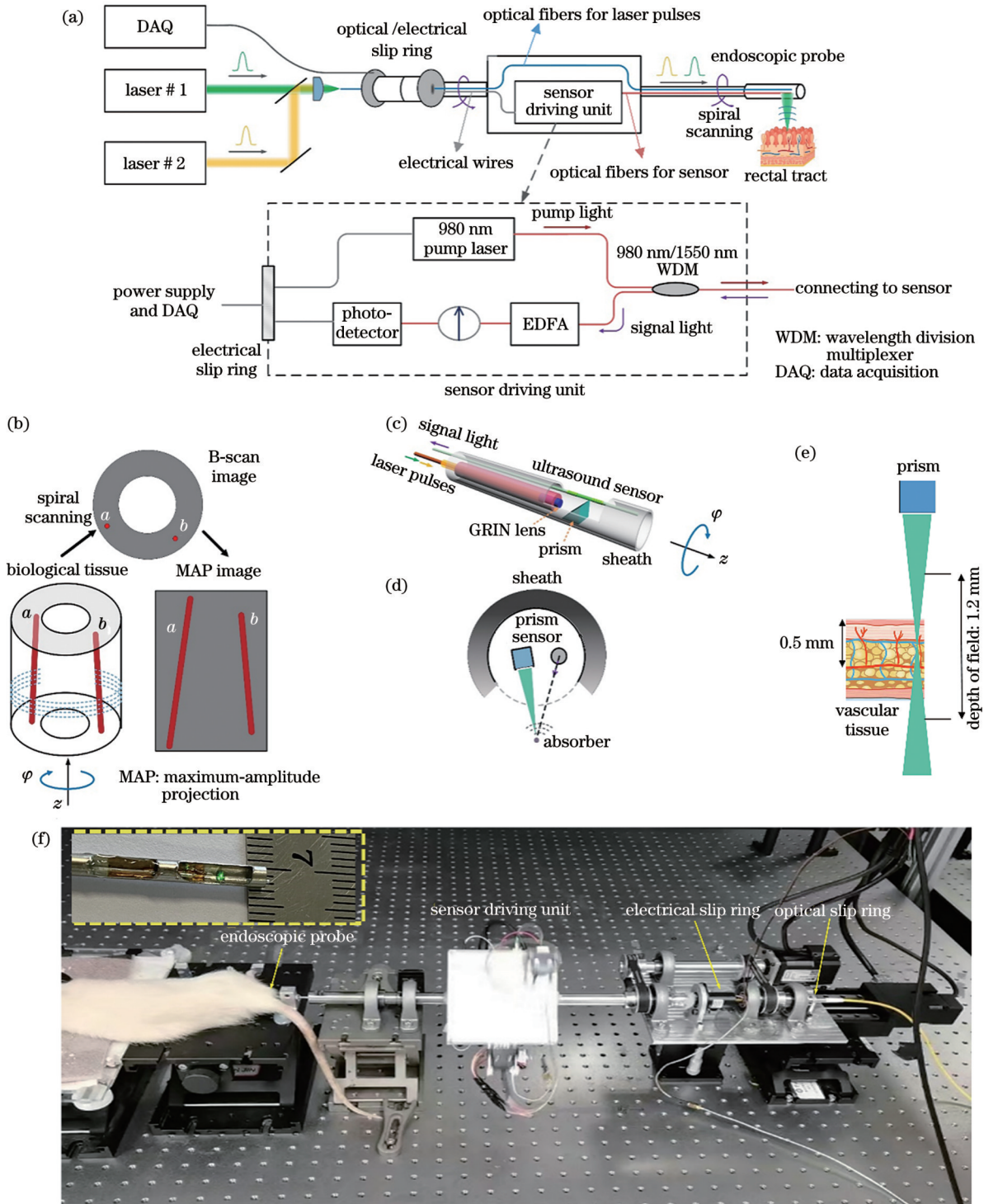


图 1 光声内窥成像探头与系统。(a)光声成像系统示意图;(b)旋转扫描成像示意图;(c)内窥探头结构示意图;(d)内窥探头截面结构;(e)景深与成像深度示意图;(f)光声内窥成像系统实物图
 Fig. 1 Photoacoustic endoscopic imaging probe and system. (a) Schematic of photoacoustic imaging system; (b) schematic of spiral scanning and imaging; (c) structural diagram of endoscopic probe; (d) cross sectional structure of endoscopic probe; (e) schematic of depth of field and imaging depth; (f) photo of endoscopic imaging system

选择合适的双波长激光来进行血氧饱和度的测量,血氧饱和度的光声测量原理在文献[31-32]中已有阐述。我们利用一台输出脉宽为 5 ns、输出波长为 532 nm 的激光器作为种子光,将其注入到一段 3 m 长的单模保偏光纤中,利用拉曼非线性效应激发出第二阶 Stokes 光以获得 558 nm 的脉冲激光。旋转半波片,调整入射光的偏振态,使受激拉曼散射效应达到最强。光纤输出的脉冲光经过带通滤波器后,其他波长被滤除,仅保留了 558 nm 波长分量。另一台 532 nm 激光器发出的光则直接通过二向色镜与 558 nm 激光光束合束,然后一并进入到单模光纤中。我们将这两个激发光源的重复频率均设为 1.6 kHz,两波长的激发光脉冲时间间隔设置为 1.35 μ s,以保证其各自激发的光声信号在时域里彻底分开,互不影响。

内窥成像探头与外界激发光源、信号采集模块等通过多根光纤连接,探头旋转时将使多根光纤缠绕在一起。为实现快速、单向旋转扫描,我们在扫描装置上进行了特殊设计,对 980 nm 泵浦源、光放大器、光电探测器等进行小型化处理,且它们与探头进行同步旋转。如图 1(a)所示,将 980 nm 泵浦光注入到探头端的激光传感器中,利用掺铒光纤放大器(模块式 EDFA)对信号光进行光学放大,并用光电探测器将其转换成电信号,然后用电滑环将电信号输入到计算机(PC)端进行数据采集。这样旋转扫描组件只保留一根光纤与外界激发光源相连接,脉冲激发光通过光环滑进入探头。我们已对滑环性能进行了优化,能够保证旋转扫描过程中激发光以低损耗通过,并以稳定的光强注入到成像探头中。图 1(b)展示了探头的螺旋扫描成像方式,其中, a 、 b 为组织结构中的两个观测位置, z 为探头后撤方向, φ 为旋转扫描方向。使用一台线性电机带动内窥探头深入动物肠道内部,另一台旋转电机带动内窥探头进行 360°旋转,两者相互配合,获得螺旋扫描曲面。PC 端同时控制着电机的驱动、激光器的触发和数据的采集。

图 1(c)所示为内窥探头结构示意图。选取长为 10 cm、外径为 2.75 mm 的不锈钢钢管作为探头的鞘管,将光声激发光纤与超声传感器置于鞘管内。合束后的脉冲激发光经聚焦耦合后被单模光纤引导,将该光纤放入到内径为 0.2 mm、外径为 0.4 mm 的毛细管中并用紫外胶进行固定,其与渐变折射率(GRIN)透镜对接耦合使激发光会聚。接下来,将二者置于内径为 0.5 mm、外径为 0.7 mm 的石英管内,通过控制光纤端面与 GRIN 透镜之间的间距来调节焦距大小。然后将一个尺寸为 1 mm \times 1 mm \times 1 mm 的直角棱镜粘在 GRIN 透镜出射端前方,使聚焦光束反射偏折后垂直注入到生物组织上。利用紫外胶将两者与石英管的连接处固定密封,防止实验过程中去离子水进入石英管内部影响激发光的光束质量。将鞘管侧面开一长约 10 mm、覆盖角度为 180°的天窗,使激发光束和光致超

声信号能够通过。随后,在鞘管侧内部放置一长约 10 cm、内径为 0.3 mm、外径为 0.5 mm 的毛细管,将光纤超声传感器置于其中。图 1(d)所示为探头的横截面结构,调整光纤传感器的摆放位置和主轴角度,使其信噪比达到最佳后用紫外胶将其固定。图 1(e)展示了激发光束与目标物体之间的空间关系。图 1(f)展示了整个内窥成像系统的实物照片。

光纤传感器的超声探测原理已在文献[33]中阐述,简而言之,在稀土掺杂光纤的纤芯上制备长度约为 3 mm 的单纵模激光器,在 980 nm 半导体激光器的泵浦作用下在 1550 nm 处产生高相干性的激光输出。当超声波作用到光纤上时,引起激光频率发生变化。通过频率解调装置对调频信号进行读取,还原超声信号。该传感器能将超声信号转换为激光输出的频率信息,同时利用其 MHz 超声频段的低噪声获得了优越的超声探测能力。成像时将整个探头置于去离子水中,实现光致超声波低损耗传输。

3 成像性能表征

在活体成像之前,我们先对光声内窥探头的空间分辨率进行了表征。将制作好的探头安装在步进电机上,通过转接架将其置于充满去离子水的水箱中,水箱底部固定 11 号手术刀片。如图 2(a)所示,在 PC 端设置好程序控制步进电机,带动探头沿着垂直于金属刀刃边缘的方向进行扫描,设置步进电机步长为 0.625 μ m。当光斑扫描至刀刃上时激发出超声信号,超声信号强度在此处发生阶跃式变化。基于测得的超声信号强度在扫描方向上的变化得到边缘扩散函数(ESF),对其在空间上作一阶微分获得线扩散函数(LSF),从而得出成像探头的横向分辨率为 12.5 μ m。图 1(e)所示为探头景深与成像深度示意图。在理想的非散射介质中,被成像物与焦点的距离在景深范围内时仍然具有足够的分辨率,景深通常为分辨率下降一半时的距离。由 GRIN 透镜的数值孔径以及工作波长可知,在被测物体距光束焦点 ± 0.6 mm 处,本文探头的横向分辨率为 25 μ m,因此确定成像探头的景深为 1.2 mm。

为了表征成像探头的稳定性,我们以典型的均匀吸收体——黑色胶带为成像样品进行测试。在直径为 5.5 mm、壁厚为 0.1 mm 的不锈钢管上开出 345°的窗口,仅保留 15°的不锈钢部分作为结构支撑。用塑料膜封住窗口构成水囊,将黑胶带样品卷曲覆盖在水囊表面。然后将内窥探头伸入到充满去离子水的水囊中,通过单向旋转探头对样品进行扫描成像,如图 2(b)所示。当扫描频率为 1 Hz 时,将激发光重复频率调至 1.6 kHz,对应光斑在样品上沿着旋转方向的步距为 10 μ m。提取每旋转一周后的光声信号峰峰值强度,获得稳定性的量化表征结果,如图 2(b)所示。在 30 min 内,计算求得信号抖动均方根(RMS)值为 2.5%,这表明探头的激发-探测效率较为稳定,能够在快速旋转扫

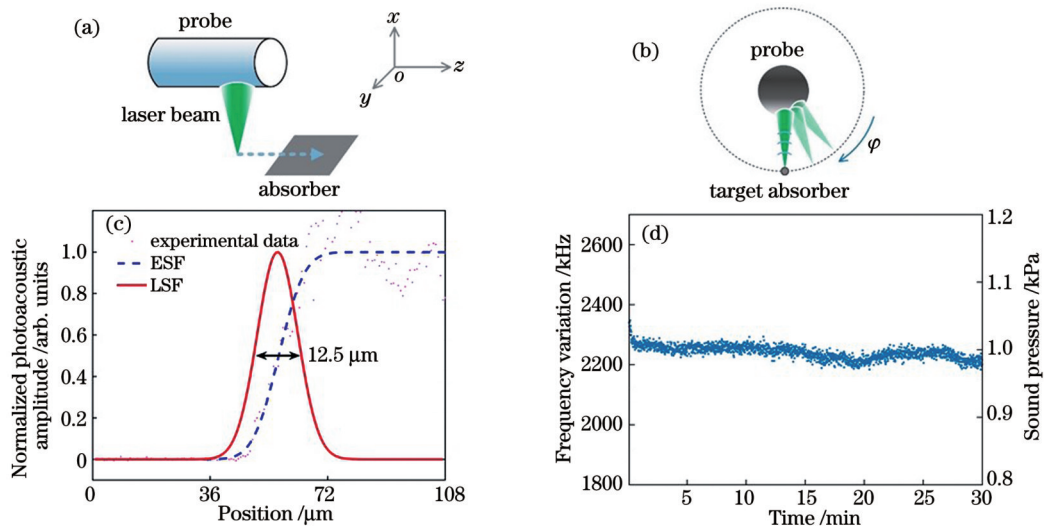


图 2 内窥镜探头的成像性能表征。横向空间分辨率的(a)表征方法与(c)结果;稳定性的(b)表征方法与(d)结果
 Fig. 2 Imaging performance characterization of endoscopic probe. (a) Characterization method and (c) results of lateral spatial resolution; (b) characterization method and (d) results of stability

描中保持稳定工作。

4 成像结果

我们先对健康小动物肠道进行内窥成像。挑选质量约为 300 g 的实验用大鼠 (Sprague-Dawley rat), 实验前 24 h 禁食, 以减少肠道内的排泄物。实验时首先对大鼠进行麻醉处理, 确保其失去行动能力。在整个实验过程中对大鼠进行持续麻醉, 始终观察大鼠的生命体征, 并适当减少麻醉剂的泵入量。大鼠麻醉后进

行灌肠处理, 以清理其肠道内的秽物, 减少对内窥成像的影响。采用容量为 10 mL 的滴管对大鼠肠道进行反复灌水, 当不再有秽物排出且排出的水变得清澈时便停止灌肠操作。灌肠时未对动物肠道造成损伤, 无出血现象。灌肠用水接近动物正常体温, 约为 37 °C, 以减少对肠道的刺激。灌肠后将大鼠放在自反馈加热垫上使其体温维持在 37.5 °C。为了将肠道撑开以减小肠道褶皱对成像血管清晰度的影响, 先将带有水囊的套管伸入直肠内, 再放入成像探头, 如图 3(a) 所示。设

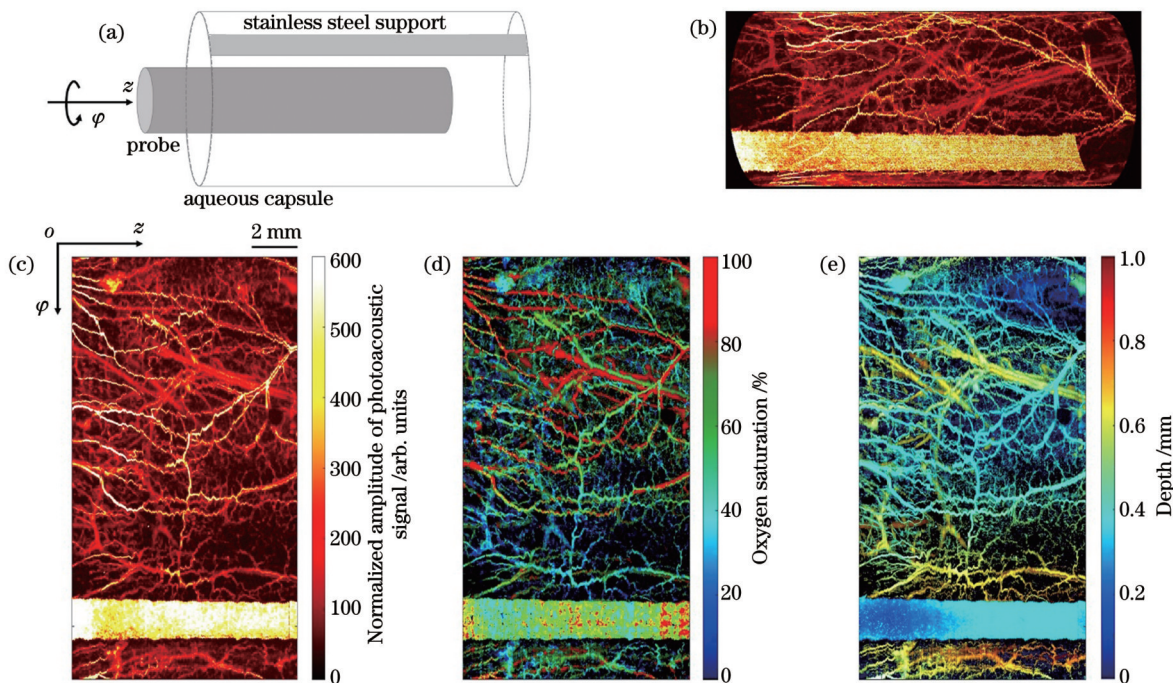


图 3 健康小动物肠道的光声内窥成像结果。(a)扫描示意图; (b)直肠内壁血管的三维空间分布; (c)光声信号归一化幅值的二维空间分布; (d)血氧饱和度的二维空间分布; (e)血管深度的二维空间分布
 Fig. 3 Photoacoustic endoscopic imaging results of intestinal tract of healthy small animals. (a) Scanning diagram; (b) three dimensional distribution of blood vessels in inner wall of rectum; (c) 2D spatial distribution of normalized amplitude of photoacoustic signal; (d) 2D spatial distribution of blood oxygen saturation; (e) 2D spatial distribution of blood vessel depth

置步进电机扫描长度为 10 mm, B-scan 频率为 1 Hz(每 1 s 旋转一圈), 对大鼠肠道进行全角度扫描, 整个成像过程持续约 17 min。实验中所用激发光脉冲能量为 300 nJ, 激发光经过折射率渐变透镜后聚焦, 其焦距为 4 mm。图 3(b) 为 532 nm 单波长激发得到的血红蛋白浓度分布的三维成像结果, 沿肠道方向的成像范围为 10 mm, 展示了大鼠肠道内壁的血管结构。图 3(c)~(e) 为展开后的二维图像, 其中下方的横杠来源于不锈钢套管的支撑结构所激发出的光声信号。在信号光的激发下, 光声信号强度与血红蛋白质量浓度(g/L)呈线性关系, 从而可以通过光声信号强度表征对应的血红蛋白的质量浓度。图 3(c) 中数据为光声信号的归一化幅值。从图 3(e) 的深度图可以看到, 成像图中血管网络的表层血管与深层血管相距 0.5 mm 以上, 表明探测深度高于 0.5 mm。

图 3(d) 中的血氧饱和度空间分布展示了内壁动静脉血管的分布情况, 可以清楚看到直肠内壁动静脉血管的分布情况。图 3(e) 展示了大鼠肠道内壁血管的分层情况, 发现动脉血管大都在浅表层位置, 而静脉血管则处在相对更深的位置上。已有较多研究和实验

验证, 基于光声显微镜的血氧饱和度测量与成像技术在离体样品^[31]及小动物的脑部^[32]、耳部^[29]甚至肠道^[34]中都能获得血氧饱和度的空间分布, 根据成像结果能够较好地分清动静脉, 观察结果与解剖学结果匹配。这一技术还被用来观察气体及药物产生的刺激响应甚至神经-血管耦合现象^[35-36], 表明该方法对血氧饱和度具有较高的测量精度。图 3 成像结果中血氧饱和度偏低或者偏高的部分是肠道组织内残存的不洁物质引起的光学散射所造成的。

虽然从图 3 中看出不锈钢支撑结构的血氧饱和度测量结果有较大波动, 但需要注意的是, 血氧饱和度的光声测量对象为血红蛋白而非金属材料。金属的光学吸收系数很高且金属具有较强的非线性效应^[37-38], 即使是在低光强激发情况下仍有可能出现较高非线性, 甚至会激发出气泡, 造成光声信号强度与激发光强不成正比, 金属吸收系数与聚焦情况密切相关。因此, 仅由光声信号强度的测量结果无法获得金属吸收系数的真实情况。

为了验证成像系统的稳定性, 我们对健康大鼠进行了连续 7 h 的内窥成像, 如图 4 所示。从成像结果可

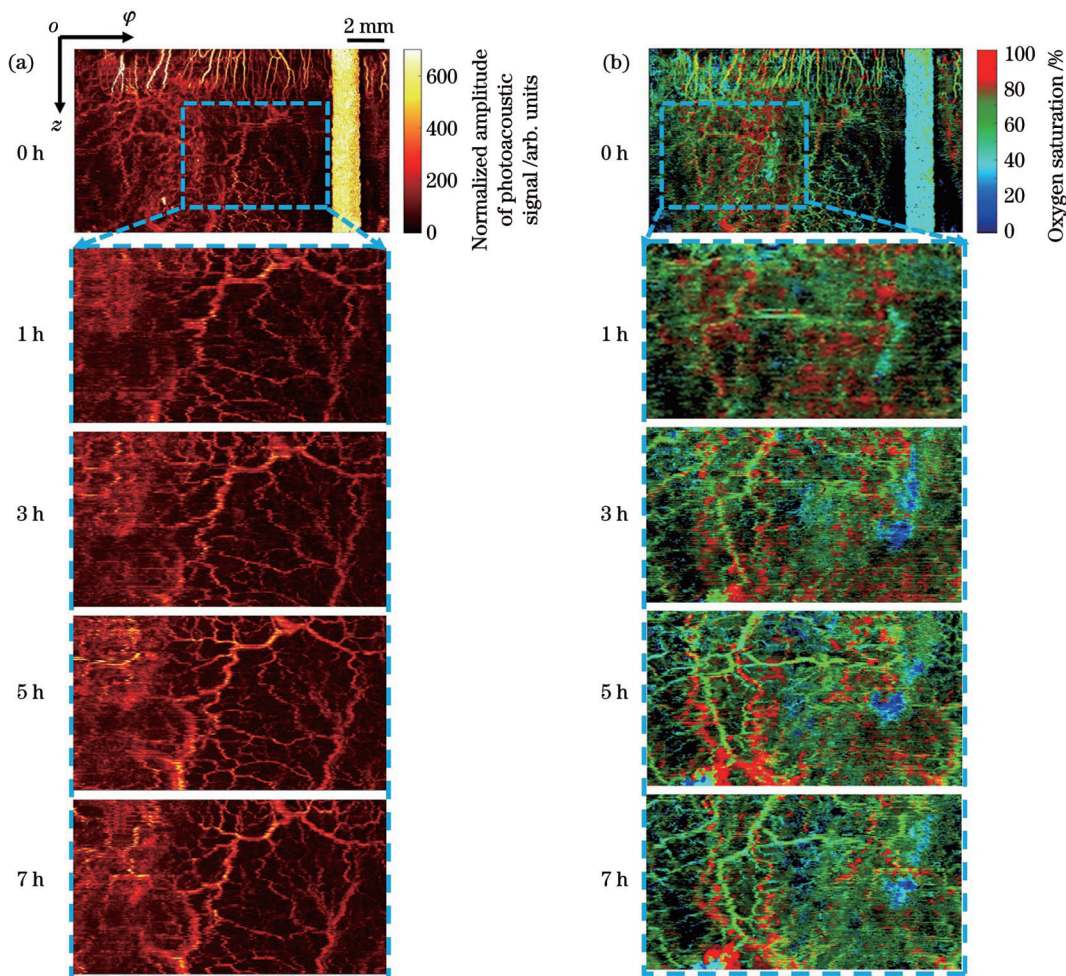


图 4 健康大鼠肠道的光声内窥成像结果。(a)光声信号归一化幅值;(b)血氧饱和度

Fig. 4 Photoacoustic endoscopic imaging results of intestinal tract of healthy rat. (a) Normalized amplitude of photoacoustic signal; (b) blood oxygen saturation

以看到,在这段时间内肠道血管内的血氧饱和度并未出现明显变化,这表明成像系统具有较好的稳定性。

接下来建立脓毒症肠道模型并进行光声内窥成像。我们同样选取质量约为 300 g 的大鼠并重复上述步骤。脓毒症模型建立之前先对健康状态下的大鼠肠道进行扫描成像以作为基准。然后建立脓毒症模型,取 20 mg 的脂多糖(LPS)将其稀释于 5 mL 水中,取 1.5 mL 配置好的溶液注射到大鼠腹腔中,每隔 1 h 对大鼠肠道同一位置进行一次扫描成像。

图 5 为 7 h 内对同一目标区域进行多次成像的实验结果,展示了脓毒症引起的大鼠肠道血管结构与血氧饱和度的变化过程。从图 5(a)可以看出,大鼠肠道内特别是虚线框区域内的血管数量随着脓毒症发作逐

渐变少,箭头标明了减少的血管位置;从图 5(b)的结果可以看出,其血氧饱和度也呈现下降的趋势,在 5 h 左右达到发病的高峰,箭头标明了血氧饱和度下降的血管。上述结果反映了脓毒症引起的组织灌注不足的现象。通过查找相关文献,发现已有研究者利用体外光声成像装置对脓毒症小动物进行了成像研究。其中,上海交通大学利用光声成像发现小鼠脓毒症会引起耳部的血管数量减少^[39],而加拿大的研究团队利用光声层析成像在脓毒症鼠模型中观察到脑部血氧的下降现象^[40]。本文利用小巧的内窥探头,以无创方式对肠道进行光声内窥成像,发现脓毒症能够在肠道内引起同样的缺血及缺氧现象^[41-42],符合脓毒症引起全身微循环障碍这一现象。

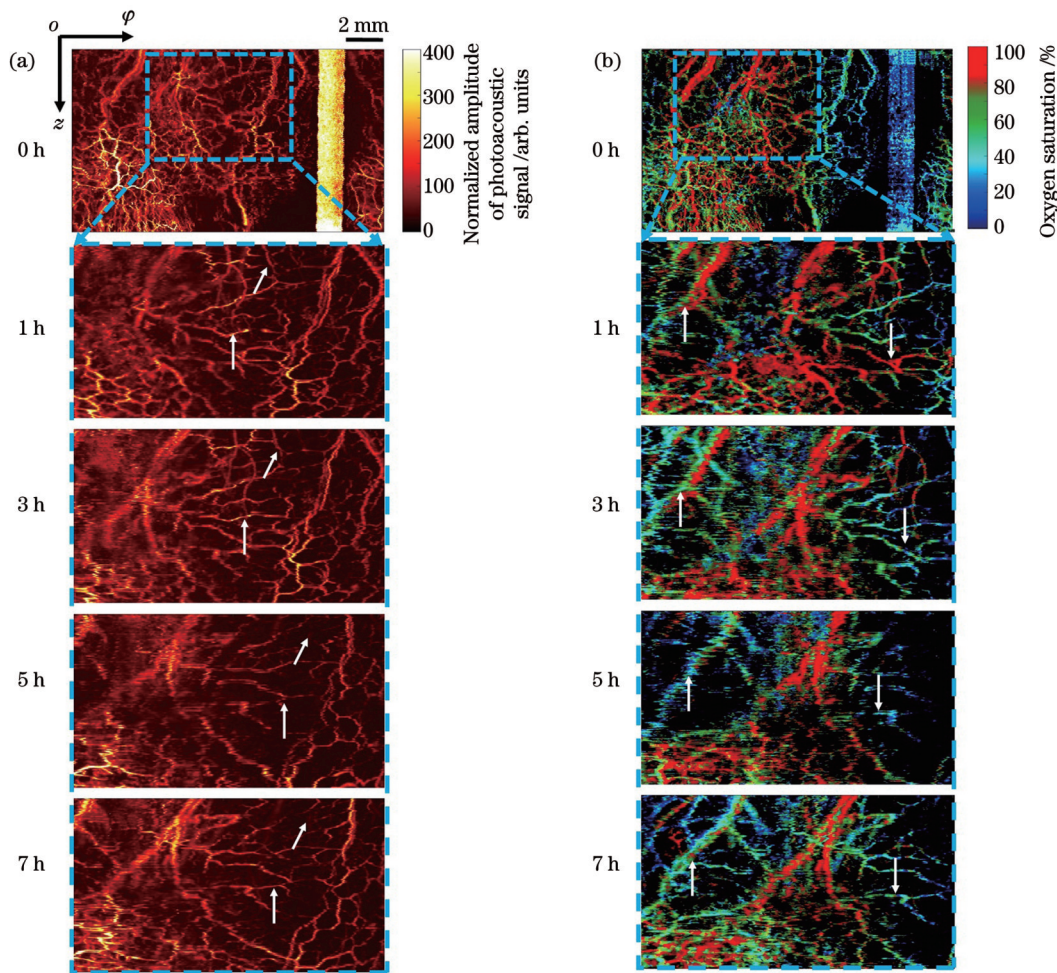


图 5 大鼠脓毒症肠道模型的成像结果。(a)光声信号归一化幅值;(b)血氧饱和度

Fig. 5 Imaging results of intestinal model in septic rats. (a) Normalized amplitude of photoacoustic signal; (b) blood oxygen saturation

5 结 论

本文针对肠道内微循环监测需求构建了小型化光纤光声内窥镜,将成像探头伸入活体小动物直肠内以旋转扫描的方式进行内窥成像。探头直径仅为 2.7 mm,空间分辨率为 12.5 μm 。探头利用光纤超声传感器对光致超声波进行成像,获得了直肠内壁血管结构与血

氧饱和度的成像结果。基于数小时连续监测,发现小动物患脓毒症后直肠内壁血管结构与血氧饱和度均发生明显变化。

血氧饱和度是指征微循环状态的重要功能参数,基于氧合/无氧血红蛋白在光学吸收谱上的差异,对血氧饱和度进行了光声测量。本文的技术方案能够较好地辨认出动静脉并获得疾病状态下的血氧饱和度变

化,主要原因有二:一是采用的激光超声传感器具有高灵敏度,能够获得比同尺寸压电探头更高的探测能力。相关研究^[29]表明,血氧饱和度的测量误差与信噪比直接相关,光声信号测量的信噪比越高,血氧饱和度误差越大。而同尺寸下光纤超声传感器的探测灵敏度比压电探头高 2 个数量级,所以基于光纤传感器的内窥镜能够提供更为准确的血氧饱和度成像图。二是双波长激发光源均具有较好的稳定性,使光声信号强度的抖动减弱。

本文对小型化光声内窥镜的稳定性进行了测量,发现在扫描均匀吸收样品时探头的激发-探测误差在 2.5% 以内。对健康动物进行了活体血氧饱和度连续 7 h 的成像,发现其血氧饱和度整体较为稳定。尽管存在一些可能由排泄物等引起的血氧异常的区域,测得的整体血氧饱和度还是能客观反映疾病引起的血氧饱和度变化。未来,我们将继续提升该内窥镜的成像能力和工程化水平,开展大型动物实验研究,力争早日在临床诊断上取得应用。

参 考 文 献

- [1] 中国微循环学会第三届全国会员代表大会暨第五次全国学术会议[J]. 世界最新医学信息文摘, 2004(3): 1165.
The third national congress and the fifth national academic conference of China microcirculation society[J]. Digest of the World Latest Medical Information, 2004(3): 1165.
- [2] 沈延飞, 蔡国龙. 脓毒症相关微循环障碍的研究进展[J]. 中华重症医学电子杂志(网络版), 2020, 6(2): 160-164.
Shen Y F, Cai G L. Research progress of microcirculation disorders associated with sepsis[J]. Chinese Journal of Critical Care & Intensive Care Medicine (Electronic Edition), 2020, 6(2): 160-164.
- [3] 张鑫月, 贾振华, 袁国强. 微循环理论应用研究进展[J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(9): 1940-1942.
Zhang X Y, Jia Z H, Yuan G Q. Research progress on application of microcirculation theory[J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2013, 40(9): 1940-1942.
- [4] 马晓春. 应加深对脓毒症微循环功能障碍的认识[J]. 中国危重病急救医学, 2011, 23(2): 66-67.
Ma X C. Sepsis is a disease of the microcirculation[J]. Chinese Critical Care Medicine, 2011, 23(2): 66-67.
- [5] 刘丽霞, 王小亭, 晁彦公, 等. 脓毒症急性肾损伤: 一种微循环疾病[J]. 临床荟萃, 2019, 34(7): 595-598.
Liu L X, Wang X T, Chao Y G, et al. Sepsis-induced acute kidney injury: a disease of the microcirculation[J]. Clinical Focus, 2019, 34(7): 595-598.
- [6] Backer D D, Creteur J, Dubois M J, et al. Microvascular alterations in patients with acute severe heart failure and cardiogenic shock[J]. American Heart Journal, 2004, 147(1): 91-99.
- [7] Fang X S, Tang W C, Sun S J, et al. Comparison of buccal microcirculation between septic and hemorrhagic shock[J]. Critical Care Medicine, 2006, 34(12 Suppl): S447-S453.
- [8] 赵梦雅, 李昂, 庄海舟, 等. 监测严重脓毒症患者舌下微循环对病情严重程度及预后判定的临床意义[J]. 中国危重病急救医学, 2012, 24(3): 158-161.
Zhao M Y, Li A, Zhuang H Z, et al. The clinical significance of determining the severity and prognosis by monitoring the changes in sublingual microcirculation in patients with severe sepsis[J]. Chinese Critical Care Medicine, 2012, 24(3): 158-161.
- [9] 吕瑞林, 吴伯瑜. 皮肤微循环检测方法及其新进展[J]. 医学综述, 2006, 12(2): 124-126, 128.
Lü R L, Wu B Y. Detecting methods of skin blood microcirculation and its new progress[J]. Medical Recapitulate, 2006, 12(2): 124-126, 128.
- [10] 唐雪, 王瑞兰. 手持式正交偏振光谱和侧流暗视野成像技术在脓毒症微循环监测中的应用进展[J]. 中国全科医学, 2011, 14(18): 2110-2112.
Tang X, Wang R L. Orthogonal polarization spectral and sidestream dark field imaging technology in microcirculation of sepsis[J]. Chinese General Practice, 2011, 14(18): 2110-2112.
- [11] Lan B X, Liu W, Wang Y C, et al. High-speed widefield photoacoustic microscopy of small-animal hemodynamics[J]. Biomedical Optics Express, 2018, 9(10): 4689-4701.
- [12] Liu W, Zhou Y, Wang M R, et al. Correcting the limited view in optical-resolution photoacoustic microscopy[J]. Journal of Biophotonics, 2018, 11(2): 201700196.
- [13] Mallidi S, Luke G P, Emelianov S. Photoacoustic imaging in cancer detection, diagnosis, and treatment guidance[J]. Trends in Biotechnology, 2011, 29(5): 213-221.
- [14] Rebling J, Estrada H, Gottschalk S, et al. Dual-wavelength hybrid photoacoustic-ultrasound biomicroscopy for functional imaging of large-scale cerebral vascular networks[J]. Journal of Biophotonics, 2018, 11(9): e201800057.
- [15] Bi R Z, Balasundaram G, Jeon S, et al. Photoacoustic microscopy for evaluating combretastatin A4 phosphate induced vascular disruption in orthotopic glioma[J]. Journal of Biophotonics, 2018, 11(10): e201700327.
- [16] Chen R M, He Y, Shi J H, et al. Transparent high-frequency ultrasonic transducer for photoacoustic microscopy application[J]. IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, 2020, 67(9): 1848-1853.
- [17] Liang Y Z, Jin L, Guan B O, et al. 2 MHz multi-wavelength pulsed laser for functional photoacoustic microscopy[J]. Optics Letters, 2017, 42(7): 1452-1455.
- [18] 谢炳凯, 刘少杰, 吴泳波, 等. 全光非接触光声层析及光学相干层析双模成像[J]. 光学学报, 2016, 36(1): 0111001.
Xie B K, Liu S J, Wu Y B, et al. Dual mode imaging of all-optical non-contact photoacoustic tomography and optical coherence tomography[J]. Acta Optica Sinica, 2016, 36(1): 0111001.
- [19] Liang Y Z, Liu J W, Wang L D, et al. Noise-reduced optical ultrasound sensor via signal duplication for photoacoustic microscopy[J]. Optics Letters, 2019, 44(11): 2665-2668.
- [20] Zhou H C, Chen N, Zhao H, et al. Optical-resolution photoacoustic microscopy for monitoring vascular normalization during anti-angiogenic therapy[J]. Photoacoustics, 2019, 15: 100143.
- [21] 吴童, 柯佳仪, 宋子奇, 等. 基于相干光纤束的无扫描无透镜 3D 内窥成像方法[J]. 光学学报, 2021, 41(18): 1811003.
Wu T, Ke J Y, Song Z Q, et al. Scanless and lensless 3D endoscopic imaging through coherent fiber bundle[J]. Acta Optica Sinica, 2021, 41(18): 1811003.
- [22] Brannon-Peppas L, Blanchette J O. Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2004, 56(11): 1649-1659.
- [23] 曾思略, 刘良检, 陈涛, 等. 声学分辨的双侧激发光声显微成像技术[J]. 中国激光, 2022, 49(15): 1507201.
Zeng S L, Liu L J, Chen T, et al. Acoustic-resolution photoacoustic microscopy with dual-sided illumination[J]. Chinese Journal of Lasers, 2022, 49(15): 1507201.
- [24] 郭恒. 基于多波长光声效应的肿瘤诊断与治疗研究[D]. 成都: 电子科技大学, 2022: 2-94.
Guo H. Tumor theranostics based on multi-wavelength photoacoustic effect[D]. Chengdu: University of Electronic Science and Technology of China, 2022: 2-94.
- [25] Liu C, Liang Y Z, Wang L D. Optical-resolution photoacoustic microscopy of oxygen saturation with nonlinear compensation[J].

- Biomedical Optics Express, 2019, 10(6): 3061-3069.
- [26] Li M C, Tang Y, Yao J. Photoacoustic tomography of blood oxygenation: a mini review[J]. Photoacoustics, 2018, 10: 65-73.
- [27] Eghbal A, Atahar M, Sreyankar N, et al. Classification of human ovarian cancer using functional, spectral, and imaging features obtained from *in vivo* photoacoustic imaging[J]. Biomedical Optics Express, 2019, 10(5): 2303-2317.
- [28] Akons K, Dann E J, Yelin D. Measuring blood oxygen saturation along a capillary vessel in human[J]. Biomedical Optics Express, 2017, 8(11): 5342-5348.
- [29] 付武兵, 梁贻智, 仲晓轩, 等. 光纤光声血氧饱和度测量与功能成像[J]. 光学学报, 2022, 42(20): 2017001.
Fu W B, Liang Y Z, Zhong X X, et al. Optical fiber photoacoustic blood oxygen saturation measurement and functional imaging[J]. Acta Optica Sinica, 2022, 42(20): 2017001.
- [30] 李强. 光纤光声内窥成像研究[D]. 广州: 暨南大学, 2020: 1-34.
Li Q. Research on fiber-optic photoacoustic endoscopy[D]. Guangzhou: Jinan University, 2020: 1-34.
- [31] Zhang H F, Maslov K, Sivaramakrishnan M, et al. Imaging of hemoglobin oxygen saturation variations in single vessels *in vivo* using photoacoustic microscopy[J]. Applied Physics Letters, 2007, 90(5): 053901.
- [32] Wang X D, Xie X Y, Ku G, et al. Noninvasive imaging of hemoglobin concentration and oxygenation in the rat brain using high-resolution photoacoustic tomography[J]. Journal of Biomedical Optics, 2006, 11(2): 024015.
- [33] Liang Y Z, Jin L, Wang L D, et al. Fiber-laser-based ultrasound sensor for photoacoustic imaging[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 40849.
- [34] Lei H, Johnson L A, Liu S C, et al. Characterizing intestinal inflammation and fibrosis in Crohn's disease by photoacoustic imaging: feasibility study[J]. Biomedical Optics Express, 2016, 7 (7): 2837-2848.
- [35] Zhu X Y, Huang Q, DiSpirito A, et al. Real-time whole-brain imaging of hemodynamics and oxygenation at micro-vessel resolution with ultrafast wide-field photoacoustic microscopy[J]. Light: Science & Applications, 2022, 11: 138.
- [36] He Y, Shi J H, Maslov K I, et al. Wave of single-impulse-stimulated fast initial dip in single vessels of mouse brains imaged by high-speed functional photoacoustic microscopy[J]. Journal of Biomedical Optics, 2020, 25(6): 066501.
- [37] Gao R, Xu Z, Ren Y, et al. Nonlinear mechanisms in photoacoustics: powerful tools in photoacoustic imaging[J]. Photoacoustics, 2021, 22: 100243.
- [38] Tian C, Xie Z X, Fabiilli M L, et al. Dual-pulse nonlinear photoacoustic technique: a practical investigation[J]. Biomedical Optics Express, 2015, 6(8): 2923-2933.
- [39] Guo Z D, Li Z, Deng Y X, et al. Photoacoustic microscopy for evaluating a lipopolysaccharide-induced inflammation model in mice [J]. Journal of Biophotonics, 2019, 12(3): e201800251.
- [40] Guevara E, Berti R, Londono I, et al. Imaging of an inflammatory injury in the newborn rat brain with photoacoustic tomography[J]. PLoS One, 2013, 8(12): e83045.
- [41] 石斌, 尹超, 郭鸿, 等. 强化胰岛素治疗对脓毒症大鼠肠道微循环的影响研究[J]. 中国危重病急救医学, 2009, 21(8): 492-494.
Shi B, Yin C, Guo H, et al. Influence of intensive insulin therapy on the intestinal microcirculatory dysfunction in rats with sepsis[J]. Chinese Critical Care Medicine, 2009, 21(8): 492-494.
- [42] Aljada A, Ghanim H, Mohanty P, et al. Glucose intake induces an increase in activator protein 1 and early growth response 1 binding activities, in the expression of tissue factor and matrix metalloproteinase in mononuclear cells, and in plasma tissue factor and matrix metalloproteinase concentrations[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2004, 80(1): 51-57.

In Vivo Photoacoustic Endoscopy Imaging of Gastrointestinal Model of Septic Small-Animal

Chen Xiaolong¹, Liang Yizhi^{1*}, Zhong Xiaoxuan¹, Bai Xue¹, Jin Long¹, Huang Wei²,
Huang Cheng³, Niu Xiaobing⁴, Guo Shanshan⁴, Guan Baiou¹

¹Guangdong Key Laboratory of Optical Fiber Sensing and Communication Technology, Institute of Photonics Technology, Jinan University, Guangzhou 511443, Guangdong, China;

²Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong, China;

³Guangdong Cardiovascular Institute, Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou 510080, Guangdong, China;

⁴Guangzhou SINCHOO Medical Technology Co., Ltd., Guangzhou 510535, Guangdong, China

Abstract

Objective Microcirculatory dysfunction may cause circulatory failure, insufficient oxygen delivery, and fatal risks. Microscopes are used to observe microcirculation, but they can only image superficial tissues. In addition, they can hardly provide functional information. In this study, we report a photoacoustic endoscope for *in vivo* imaging of the gastrointestinal microcirculation. The imaging probe is inserted into the rectum of a small animal for rotational-scanning endoscopic imaging. The vascular structures in the gastrointestinal wall can be visualized by detecting the ultrasound excited by the pulsed laser. Moreover, the blood oxygen saturation can be measured and imaged with a dual-wavelength excitation based on the difference in the optical absorption spectrum between oxygenated and deoxygenated hemoglobin. We believe that this technology is capable of detecting the functional changes associated with microcirculation diseases with minimal invasion.

Methods The imaging system consists of an endoscopic imaging probe, dual-wavelength pulsed laser source, rotary scanning device, and data acquisition and control module. First, we design an all-fiber endoscope probe containing two functional optical fibers as follows: one responsible for guiding and focusing the pulsed light and the other equipped with a laser ultrasonic sensor to detect the photoacoustic signal. Second, we design a rotational scanning device that rotates synchronously with the probe to achieve fast and unidirectional rotary scanning. This is achieved by miniaturizing the 980-nm pump laser, the optical amplifier, and the photodetector.

Finally, we perform high-resolution *in vivo* endoscopic imaging of the rat rectum.

Results and Discussions The endoscope probe has a diameter of 2.75 mm, a resolution of 12.5 μm , signal jitter root mean square of 2.5%, and a B-scan frequency of 1 Hz. The instrument is stable and provides spatial resolution in high-speed scanning and is suitable for small animal digestive tract endoscopic imaging. The functional imaging results of the rectum of healthy rats show that we achieve 360° scanning, obtain the three-dimensional imaging results of hemoglobin concentration distribution, and show the vascular structure of the inner wall of the rat rectum. Along with the spatial distribution of blood oxygen saturation, the images show the distributions of the artery and vein in the inner wall (Fig. 3). The imaging results of septic rats show the changes in microcirculation. According to the imaging result, the number of blood vessels in the intestine of rats gradually decreases, and the blood oxygen saturation also declines in 5 h (Fig. 4). The above results reflect the phenomenon of insufficient tissue perfusion caused by sepsis.

Conclusions In summary, we develop a photoacoustic endoscope for *in vivo* rectal imaging. By using fiber optic ultrasound sensors, the endoscope can image the vascular structure and visualize the changes in oxygen saturation. By using this endoscope, we can visualize the gastrointestinal microcirculatory disorder caused by lesions. The structure, number, and blood oxygen saturation level of blood vessels are significantly changed. The experimental results show that this technology can provide functional imaging results with high spatial resolution and high contrast in the endoscopic imaging of narrow cavity structures, thus providing a feasible imaging method for the characterization of microcirculation status and the diagnosis and treatment of acute and severe diseases.

Key words bio-optics; photoacoustic imaging; photoacoustic endoscopy; ultrasound sensors; optical fiber sensors; microcirculatory disturbance