

# 基于皮肤仿体的甘油光透明效果研究

蒋景英<sup>1</sup> 陈伟<sup>1</sup> 徐可欣<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>天津大学精密仪器与光电子工程学院生物医学工程系, 天津 300072)  
(<sup>2</sup>天津大学精密测试技术及仪器国家重点实验室, 天津 300072)

**摘要** 为了实现对甘油光透明效果的定量描述,引入组织仿体模拟皮肤的光学参数,分别利用双积分球系统及近红外光谱仪对含有不同浓度甘油的皮肤仿体的光学特性进行测量,研究甘油浓度变化对皮肤仿体光透明效果的影响。结果表明,在632.8 nm处随甘油浓度的增加皮肤仿体的散射系数降低,光穿透深度也得到提高,最大能提高48.76%;同时,皮肤仿体在近红外波段的透射能量也随着甘油浓度的增加而增大,即总衰减系数降低,从而表明利用皮肤仿体可描述甘油引起的光透明效果与甘油浓度变化的定量关系。

**关键词** 生物光学; 皮肤仿体; 光透明; 甘油; 散射效应; 光穿透深度; 总衰减系数

**中图分类号** R318.51      **文献标识码** A      **doi**: 10.3788/LOP48.021702

## Optical Clearing Effects Caused by Glycerol Based on Tissue-Simulating Phantoms

Jiang Jingying<sup>1</sup> Chen Wei<sup>1</sup> Xu Kexin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biomedical Engineering, College of Precision Instruments & Opto-Electronics Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China

<sup>2</sup>State Key Laboratory of Precision Measuring Technology and Instruments, Tianjin University, Tianjin 300072, China

**Abstract** In order to describe optical clearing effects of glycerol quantitatively, tissue-simulating phantoms whose optical properties are identical with that of human skin tissue are introduced. The optical clearing effects of tissue-simulating phantoms with different concentrations of glycerol have been studied by using double integrating spheres system and Fourier transform-infrared (FT-IR) spectrophotometer. The results show that the scattering coefficients of skin phantoms decrease with the rising glycerol concentration at the wavelength of 632.8 nm, and the light penetration depth increases and the maximum percentage attains to 48.76%. Meanwhile, with the increase of glycerol concentration, the transmittance of skin phantoms increases as well, which equals the reduction of total attenuation coefficients. Therefore, the correlation can be obtained quantitatively between the optical clearing effects induced by glycerol and its concentration in tissue-simulating phantoms.

**Key words** biomedical optics; skin phantom; optical clearing; glycerol; scattering effect; light penetration depth; total attenuation coefficient

**OCIS codes** 170.1420; 170.3660; 170.4580

## 1 引言

组织光透明技术是近年来发展起来的一门新技术<sup>[1]</sup>,研究内容主要涉及组织光学、光谱学、化学、生物医学等多学科的交叉。组织光透明技术促使生物组织产生光透明效果的方式具有多种,其中的一种方法是通过向生物组织中加入适当的透明剂,降低组织的散射系数从而提高光穿透深度,对于人体内成分的非创光学检测及成像技术的研究具有重要意义。研究者利用多种透明剂,如甘油<sup>[2]</sup>、二甲基亚砜(DMSO)<sup>[3]</sup>、丙二醇<sup>[4]</sup>、聚乙二醇<sup>[5]</sup>、油酸<sup>[6]</sup>、噻酮<sup>[7]</sup>等分别应用于皮肤组织、血液及猪的胃肠组织等进行了大量的研究及尝

**收稿日期**: 2010-08-20; **收到修改稿日期**: 2010-10-26

**基金项目**: 国家自然科学基金(30600126)资助课题。

**作者简介**: 蒋景英(1972—),女,副教授,硕士生导师,主要从事生物光学及成像技术、光谱检测技术、人体内成分非创光学检测及组织光透明技术等方面的研究。E-mail:jingying@tju.edu.cn

试,利用光谱测量法<sup>[8]</sup>、积分球技术<sup>[9]</sup>、光学相干层析成像(OCT)<sup>[10]</sup>以及直观图<sup>[11]</sup>等方法从不同角度证实了该技术能够增强生物组织对光的通透性,从而使组织变得更透明。Alexey N. Bashkatov 等<sup>[12]</sup>利用蒙特卡罗方法对皮肤各层在葡萄糖、甘油作用下的光谱变化及光穿透深度进行了模拟分析,认为光在皮肤各层中的穿透深度随着散射效应的降低而增加,尤其是在真皮层,透明剂基本不改变其吸收特性,且清透效果最为明显。Xiangqun Xu 等<sup>[13]</sup>比较了胃肠组织在不同浓度甘油与 DMSO 的协同作用下产生的清透效果,表明一定浓度的甘油和 DMSO 混合作用于组织后,光经组织后的透射增加而漫反射降低,在混合光透明剂的作用下光穿透胃肠组织深度增大,达到较好的光透明效果。Christopher G. Rylander 等<sup>[14]</sup>研究了组织脱水引起光透明效果的机制,利用透射电子显微镜观察到在光透明剂的作用下,组织脱水可以使组织中的胶原纤维、细胞器等散射粒子在不改变功能及粒子大小的条件下结合得更加紧密,从而产生光透明效果。

虽然组织光透明技术在无创光学检测及光学成像领域显示出巨大的发展潜力,但从目前该技术在国内外的研究状况看,仍面临着尚未解决的难点。由于生物个体间的差异,导致同一个体不同部位的组织或者不同个体同一部位的组织在同一种透明剂作用下的光透明效果也有所不同,从而导致对透明剂引起生物组织产生光透明效果的研究只能停留在对实验结果的总结及定性层面,尚未实现光透明剂剂量与生物组织光学特性改变之间、光透明效果与透明剂作用时间之间的定量控制。本文借助光学参数与人体皮肤组织接近而且稳定的组织仿体作为研究对象,通过调整仿体中吸收和散射成分的含量,制备出与人体皮肤组织光学参数一致的皮肤仿体,排除因皮肤组织生理结构及个体差异等因素的影响,研究皮肤仿体中甘油含量变化对其光学特性的改变情况,探讨了光透明剂甘油引起皮肤仿体产生光透明效果的控制方法。

## 2 材料与方法

### 2.1 皮肤仿体制备及透明剂选择

主要选择高纯琼脂粉(美国西格玛公司, A-7049)、印度墨水(北京索莱宝科技有限公司)和脂肪乳液(华瑞制药有限公司)分别作为皮肤仿体的基体、吸收及散射成分。具体制备过程为:1)将一定量的琼脂粉加入到 70 °C 的蒸馏水中,搅拌加热到 95 °C,置于 70 °C 恒温水浴中;2)将 70 °C 的印度墨水和脂肪乳液的混合溶液与琼脂溶液在不断搅拌下进行混合、定容;3)利用磁力搅拌器搅拌仿体溶液至 50 °C;4)将仿体溶液浇注在特定模具中,1~2 min 后即可对其进行光学特性的相关测量。

选择甘油(上海生工生物工程技术有限公司)作为研究皮肤仿体光透明效果的光透明剂,在皮肤仿体制备过程 2)中,以一定量的甘油替代仿体中的水分得到含不同浓度甘油的皮肤仿体。

### 2.2 实验系统及测量方法

图 1 为搭建的双积分球(美国 SphereOptics, SPH-12)测量系统,光源为 He-Ne 激光(LD,波长 632.8 nm,光斑直径 1.5 mm),采用硅光二极管作为检测器(D1 和 D2)。测量时将样品夹在两个积分球中间的样品池中,通过选择检测器 D1 和检测器 D2 的通道分别得到样品的漫反射率及全透射率,再利用逆倍增法<sup>[15]</sup>(IAD)反推出样品的吸收系数和约化散射系数。

利用傅里叶红外光谱仪(FT-IR, Spectrum GX 系列)可以测量得到仿体样品在近红外波段的透射光

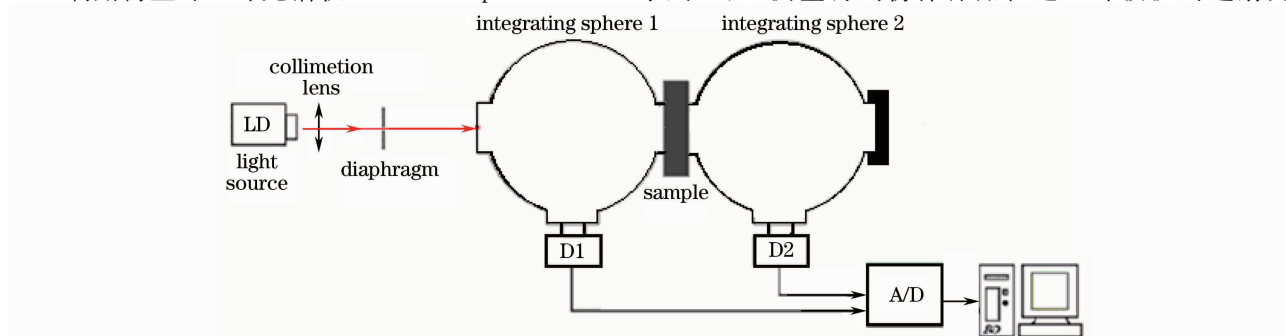


图 1 双积分球测量系统示意图

Fig. 1 Schematic of the double integrating sphere system

谱,其中被测样品与检测器的距离为 10 cm,检测器的接收孔直径为 1.59 mm,测量方法示意图如图 2 所示。

### 2.3 理论

折射率可根据 Gladstone&Dale 法则<sup>[1]</sup>进行计算,即含多元组分系的折射率等于该系统中各组分的折射率关于它们浓度的平均值,表示为

$$n = \sum_i^N n_i \cdot V_i, \quad \sum_i V_i = 1, \quad (1)$$

式中  $n_i$  和  $V_i$  分别表示仿体溶液中第  $i$  中组分的折射率值和浓度,  $N$  表示组成仿体溶液的总成分个数。

在对样品进行透射测量时,通常引入吸光度  $A$  来反映被测样品对光的吸收程度的大小,即

$$A = -\ln(I/I_0) = \mu_a d, \quad (2)$$

式中  $I_0$  表示背景的透射光强,  $I$  表示光透过样品后的透射光强,  $d$  为厚度。对于纯吸收物质,其吸收系数  $\mu_a$  可由(2)式计算得到,皮肤仿体中不同浓度印度墨水的吸收系数理论值即通过(2)式进行计算。对于具有强散射特性的介质,使光强衰减的因素主要有两个:一个是光的吸收过程;另一个是光的散射过程。虽然这两种因素在本质上是不同的,但是它们对入射光的影响却是相同的:即减弱透射光强。而朗伯-比尔定律只描述了吸收过程,因此在对浑浊介质的应用上存在着局限性,需要对定律加以修正。由于皮肤仿体厚度足够薄(1 mm),假设其对光的多次散射可以忽略,而把由散射所引起的入射光强衰减过程看作是一种吸收过程,得到修正的朗伯-比尔定律,用以描述光在皮肤仿体中的衰减,即总衰减系数可表示为

$$\mu_t = -\frac{1}{d} \ln \frac{I}{I_0}, \quad (3)$$

## 3 结果与分析

### 3.1 光学参数的确定

在保证配制皮肤仿体样品时所用的琼脂粉、印度墨水溶液和脂肪乳液溶液均取自同一试剂包装内的条件下,根据制备流程,分别配制 10 组仿体,其吸收成分印度墨水和散射成分脂肪乳液的浓度均相同,皮肤仿体中琼脂的质量分数均为 1.5%。图 3 所示为含相同吸收和散射成分的皮肤仿体重复性。皮肤仿体吸收系数的 10 次结果中与平均值相对偏离的最大百分比为 4.39%,且标准偏差为 0.239%;各约化散射系数与平均值相对偏离的最大百分比为 5.18%,且标准偏差为 4.47%,因此,可以认为皮肤仿体的整体重复性较好。

为了得到皮肤仿体光学参数与其组成成分含量之间的定量关系,设计两组实验进行分析:1)保持仿体中散射成分含量恒定,改变吸收成分印度墨水的浓度,利用双积分球测量仿体在 632.8 nm 处的吸收系数和约化散射系数,结果表明皮肤仿体的吸收系数与所加入的印度墨水浓度呈正比关系,吸收系数值与印度墨水浓度间的相关系数达到了 0.9987,而约化散射系数不随印度墨水浓度的改变而变化,在对仿体约化散射系数进行拟合时可以忽略印度墨水的影响;2)保持仿体中吸收成分含量恒定,改变散射成分脂肪乳液的浓度进行测量,散射成分脂肪乳液同时影响着皮肤仿体的吸收系数和约化散射系数:吸收系数和约化散射系数与脂肪乳液浓度之间的相关系数分别达到 0.9949 和 0.9984,即均随脂肪乳液溶液浓度的增加而升高。利用曲线拟合方法得到仿体吸收系数和约化散射系数的经验拟合公式<sup>[16]</sup>。

对于任意光学参数( $\mu_a, \mu'_s$ ),可唯一确定一组印度墨水和脂肪乳液浓度值( $C_{ink}, C_{IL}$ ),因此,只需适当调整吸收成分印度墨水和散射成分脂肪乳液的剂量,即可得到皮肤仿体在特定波长 632.8 nm 下的光学参数,从而建立起皮肤仿体与其组分之间的一一对应关系。

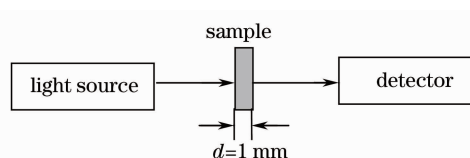


图 2 近红外光谱仪准直透射测量装置示意图  
Fig. 2 Schematic of collimated transmittance detection device of FT-IR spectroscopy

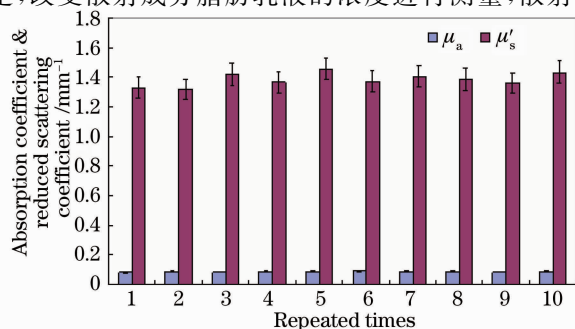


图 3 皮肤仿体吸收系数和约化散射系数的重复性  
Fig. 3 Repeatability of absorption coefficients & reduced scattering coefficients of skin tissue-simulating phantoms

### 3.2 皮肤仿体的光透明效果

根据人体皮肤组织在 632.8 nm 处的光学参数,可以方便地计算出满足该光学参数下皮肤仿体中各组成成分的含量,由此制备出仿体以模拟组织的光学特性,从而应用于甘油清透效果的实际研究中。以印度墨水质量分数为 1.2%,脂肪乳液质量分数为 2% 模拟皮肤组织的光学参数,改变仿体中透明剂甘油的浓度,研究皮肤仿体在甘油作用下的光透明效果。

图 4 显示了皮肤仿体的光学参数随甘油浓度增加而变化的趋势。由于甘油在该波长处的吸收较弱<sup>[1]</sup>,甘油浓度变化基本不影响皮肤仿体的吸收系数,加入透明剂后皮肤仿体的吸收系数仍保持不变;皮肤仿体的约化散射系数随加入其中的光透明剂甘油浓度的增加而逐渐减小,且两者之间具有良好的线性关系,即仿体约化散射系数的降低与甘油浓度呈正比关系,此时皮肤仿体的约化散射系数可表示为脂肪乳液与甘油各自贡献的加和

$$\mu'_{s\_phantom} = \mu'_{s\_IL} - \mu'_{s\_OCAs}, \quad (4)$$

代入测量结果可得出甘油浓度变化与皮肤仿体约化散射系数的定量公式<sup>[16]</sup>。

因此,可以利用(4)式描述甘油对皮肤仿体光学参数的改变情况,研究甘油浓度变化对皮肤仿体光透明效果的定量控制方法。光穿透深度  $\delta$  是组织光透明技术中用于描述清透效果的一个重要参数,将含有不同浓度甘油的皮肤仿体的吸收系数和约化散射系数  $\mu'_s$  代入

$$\mu'_s = \mu_s(1 - g), \quad (5)$$

$$\delta = \frac{1}{\sqrt{3\mu_a[\mu_a + \mu_s(1 - g)]}}, \quad (6)$$

计算得到光在仿体中的穿透深度其中  $g$  为各项异性因子,结果如图 5 所示。甘油浓度的增加,使得皮肤仿体的散射特性降低而产生光透明效果,从而导致光在其中的穿透深度得到增加,当仿体中甘油质量分数为 35% 时,穿透深度达到 2.24 mm,增加了 48.76%。

### 3.3 近红外波段仿体光学特性变化

图 6(a)为利用光谱仪测量得到在 1000~1700 nm 范围内,仍以印度墨水质量分数 1.2%,脂肪乳液质量分数 2% 模拟皮肤组织的光学参数,改变仿体中透明剂甘油

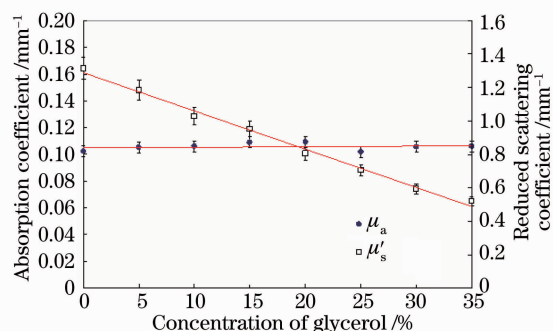


图 4 皮肤仿体吸收系数和约化散射系数随甘油浓度的变化

Fig. 4 Variation of absorption coefficients and reduced scattering coefficients with the concentration of glycerol

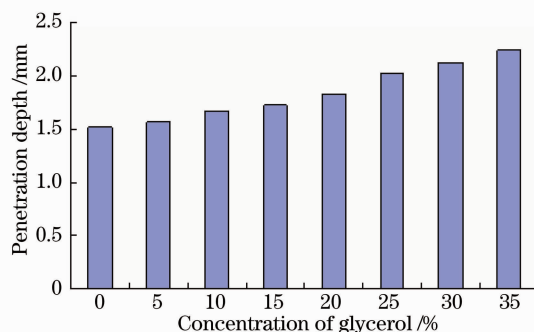


图 5 皮肤仿体光穿透深度随甘油浓度的改变

Fig. 5 Variation of light penetration depth into skin tissue-simulating phantoms with the concentration of glycerol

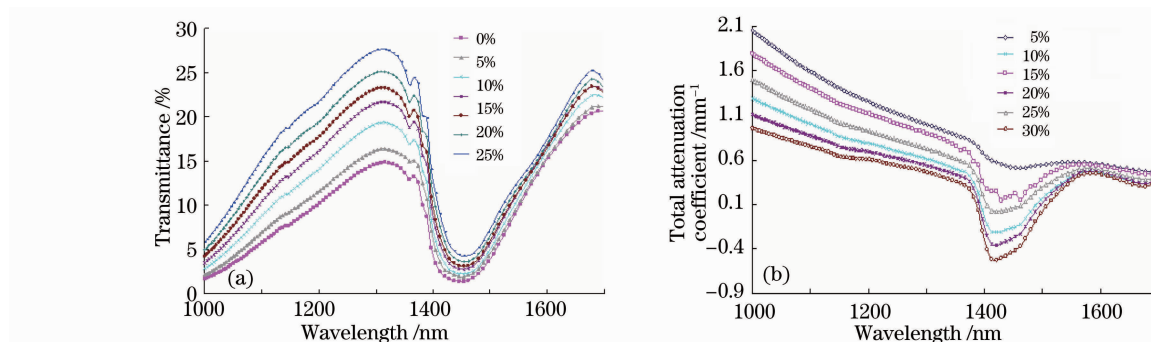


图 6 皮肤仿体透射能量(a)与总衰减系数(b)随甘油浓度的变化

Fig. 6 Variation of transmittance spectra (a) and total attenuation coefficients (b) of skin tissue-simulating phantoms with the concentration of glycerol in the wavelength from 1000 to 1700 nm

的浓度,研究不同浓度甘油下仿体的透射光强变化光谱。

随着皮肤仿体中甘油成分所占比重的增加,光穿过仿体后的透射能量也随之增加,说明在近红外波段,透明剂能够降低仿体的散射特性,使透过皮肤仿体后的光能量增加,皮肤仿体变得更加透明。由透射能量得出仿体总衰减系数随甘油浓度变化而改变的趋势,如图 6(b)所示。可以看出,皮肤仿体总衰减系数随着甘油浓度的增加而减小,表明皮肤仿体产生了光透明效果,即散射效应降低,从而光穿透深度得到改善。

由于脂肪乳液的粒径分布、折射率等因素的差异、实验系统热噪声、以及配制样品时的人为因素、以及加入琼脂后,琼脂能使约化散射系数降低,降低程度取决于琼脂在皮肤仿体中的含量,含量越高,降低程度越大<sup>[17]</sup>,皮肤仿体的约化散射系数与相关文献参考值<sup>[18]</sup>虽存在差异,但皮肤仿体光学特性的重复性结果表明本实验中的皮肤仿体能够稳定地模拟人体皮肤光学参数,适用于光透明效果的研究。实验中在 632.8 nm 处,随着皮肤仿体中透明剂甘油浓度的增加,光学穿透深度也随之增加。在 1000~1700 nm 波段范围内,皮肤仿体中甘油浓度的增加,降低了其散射特性,近红外光在其中的衰减程度有效地减小。在 1275 nm 处,随着甘油浓度的变化,总衰减系数与不含甘油的皮肤仿体相比,分别降低了 9.96%,26.43%,37.79%,44.93%和 52.40%。同时,根据光衰减系数的定义及(5)式分析可知,在皮肤仿体吸收成分印度墨水浓度保持不变的情况下,光衰减系数在甘油作用下的减少即为约化散射系数的减小,故在近红外波段光穿透深度也随皮肤仿体中甘油浓度的增加而增大。

## 4 结 论

研究表明,皮肤仿体中甘油浓度变化引起的光学特性变化,主要是因为甘油替代皮肤仿体中部分水分后,脂肪乳液中的散射粒子与甘油之间形成了相对匹配的折射率环境,从而发生光透明效果,且折射率匹配程度越高(甘油含量越高),光透明效果越好。通过推导出的定量模型,初步实现了甘油光透明效果的定量预测。本实验对实现定量控制生物组织光透明效果,从中获取组织内部深层信息,在基于光学检测的疾病诊断和治疗中能够及时获得更加准确的生理信息,及早发现病因,而且对于提高生物医学光子学领域中的无创检测方法的测量精度具有一定的参考价值。采用皮肤仿体应用于光透明效果的研究也为光透明技术的原理性研究及应用研究提供了新的思路。

## 参 考 文 献

- 1 V. V. Tuchin, I. L. Maksimova, D. A. Zimnyakov *et al.*. Light propagation in tissues with controlled optical properties [C]. *SPIE*, 1996, **2925**: 119~141
- 2 J. Jiang, R. K. Wang. Comparing synergistic effects of oleic acid and dimethyl sulfoxide as vehicle on optical clearing of skin tissue in vitro[J]. *Phys. Med. Biol.*, 2004, **49**(23): 5283~5294
- 3 Albert K. Bui, R. Anthony McClure, Jennell Chang *et al.*. Revisiting optical clearing with dimethyl sulfoxide (DMSO) [J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2009, **41**(2): 142~148
- 4 Zhongwei Zhi, Zhenzhen Han, Qingming Luo *et al.*. Improve optical clearing of skin in vitro with propylene glycol as a penetration enhancer[J]. *J. Innovative Optical Health Sciences*, 2009, **2**(3): 269~278
- 5 Zongzhen Mao, Dan Zhu, Yating Hu *et al.*. Influence of alcohols on the optical clearing effect of skin in vitro[J]. *J. Biomed. Opt.*, 2008, **13**(2): 021104
- 6 R. K. Wang, J. B. Elder. Propylene glycerol as a contrasting agent for optical coherence tomography to image gastrointestinal tissues[J]. *Laser Surg. Med.*, 2002, **30**(3): 201~208
- 7 Mao Zongzen, Hu Yating, Zheng Ying *et al.*. Experimental study on influence of Thiazone on optical clearing of piglet skin in vitro[J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(3): 526~530  
毛宗珍,胡亚婷,郑英等.噻酮对离体乳猪皮肤光透明效果影响的实验研究[J]. *光学学报*, 2007, **27**(3): 526~530
- 8 John A. Viator, Bernard Choi, George M. Peavy *et al.*. Spectra from 2.5~15  $\mu\text{m}$  of tissue phantom materials, optical clearing agents and ex vivo human skin; implication for depth profiling of human skin[J]. *Phys. Med. Biol.*, 2003, **48**(2): N15~N24
- 9 Jingying Jiang, Wei Chen, Qiliang Gong *et al.*. Study on optical clearing effects by using tissue-like phantom[C]. *SPIE*, 2010, **7563**: 75630P
- 10 R. K. Wang, X. Xu, V. V. Tuchin *et al.*. Concurrent enhancement of imaging depth and contrast for optical coherence tomography by hyperosmotic agents[J]. *J. Opt. Soc. Am. B*, 2001, **18**(7): 948~953
- 11 Xiang Wen, Valery V. Tuchin, Qingming Luo *et al.*. Controlling the scattering of intralipid by using optical clearing agents

- [J]. *Phys. Med. Biol.*, 2009, **54**(22): 6917~6930
- 12 Alexey N. Bashkatov, Elina A. Genina, Valery V. Tuchin *et al.*. Monte carlo study of skin optical clearing to enhance light penetration in the tissue[C]. *SPIE*, 2007, **6535**: 653514
- 13 Xiangqun Xu, Ruikang Wang. Synergistic effect of hyperosmotic agents of dimethylsulfoxide and glycerol on optical clearing of gastric tissue studied with near infrared spectroscopy[J]. *Phys. Med. Biol.*, 2004, **49**(3): 457~468
- 14 Christopher G. Rylander, Oliver F. Stumpp, Thomas E. Milner *et al.*. Dehydration mechanism of optical clearing in tissue [J]. *J. Biomed. Opt.*, 2006, **11**(4): 041117
- 15 S. S. Prahl, M. J. C. van Gemert, A. J. Welch. Determining the optical properties of turbid media by using the adding doubling method[J]. *Appl. Opt.*, 1993, **32**(4): 559~568
- 16 Jingying Jiang, Wei Chen, Qiliang Gong *et al.*. Quantitative control of optical clearing effects studied with tissue-like phantom[J]. *J. Innovative Optical Health Sciences*, 2010, **3**(3): 195~202
- 17 Rinaldo Cubeddu, Antonio Pifferi, Paola Taroni *et al.*. A solid tissue phantom for photon migration studies[J]. *Phys. Med. Biol.*, 1997, **42**(10): 1171~1179
- 18 J. W. Pickering, C. J. M. Moes, H. J. C. M. Sterenborg *et al.*. Two integrating spheres with an intervening scattering sample[J]. *J. Opt. Soc. Am. A*, 1992, **9**(4): 621~631