多普勒光学相干层析成像研究进展

丁志华赵晨鲍文沈毅王川黄良敏吴兰杜持新

(浙江大学现代光学仪器国家重点实验室,浙江杭州 310027)

摘要 光学相干层析成像技术(OCT)自诞生至今已得到了飞速发展和广泛应用。多普勒 OCT 是 OCT 在功能成 像方面的重要拓展。介绍了谱域 OCT(SD-OCT)系统及其在小鼠脑部血管血流的动态监测和微流控芯片流场测 量中的典型应用,报道了本课题组在多普勒成像方法与系统研制方面的最新进展,包括用于多普勒成像的高级互 相关相位获取新方法,用于矢量速度测量的二区分束与渡越时间分析方法,以及超大量程正交色散 SD-OCT 系统 及其相位成像应用。

Advances in Doppler Optical Coherence Tomography

Ding Zhihua Zhao Chen Bao Wen Shen Yi Wang Chuan Huang Liangmin Wu Lan Du Chixin

(State Key Laboratory of Modern Optical Instrumentation, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310027, China)

Abstract Rapid developments and wide applications of optical coherence tomography (OCT) have been achieved since its first coming into being. Doppler OCT is an important functional extension of existing OCT imaging modality. Spectral domain OCT (SD-OCT) system and its applications in dynamic monitoring of blood flow in a rat brain model and three-dimensional flow-field measurement of a microfluidic chip are presented. Recent advances in Doppler imaging method and system developments are reported, including sensitive phase retrieval for Doppler imaging through higher-order cross-correlation, vector-velocity quantification by two-zone beam divider and transit-time analysis, ultralong-range orthogonal dispersive SD-OCT system and its application in phase-sensitive imaging.

Key words medical optics; optical coherence tomography; Doppler imaging; cross correlation; vector velocity; orthogonal dispersion

OCIS codes 170.4500; 110.1650; 220.4830

1引言

光学相干层析成像(OCT)是一种能对散射组织内部结构进行快速高分辨率成像的无损光学成像方法。 现阶段,谱域光学相干层析技术(SD-OCT)是 OCT 技术的重点研究方向之一。在 SD-OCT 中,被测样品的 深度结构信息由探测到的光谱信号通过傅里叶变换得到,系统成像速度和信噪比较之时域 OCT 有了显著 提高。为了获得生物组织的一些特异性参数信息,OCT 技术在功能成像方面得到拓展。多普勒 OCT 就是 重要的功能成像模式之一,它将 OCT 技术与多普勒技术有机结合,可以在对被测样品内部结构进行成像的 同时,根据探测到的多普勒频移来获得样品内散射粒子的流速信息,具有较高的临床应用价值。在眼科学 中,多普勒 OCT 可用于获取活体视网膜血管中的血液流速信息,对眼科疾病的早期诊断、病情监控和药物 疗效评价起到重要作用。在动物实验中,多普勒 OCT 可以在微米尺度下对大脑内的血管血流成像,有助于 了解脑血管疾病和神经退行性疾病的发病机制,显示了其在大脑研究领域的前景。

多普勒 OCT 对被测样品内散射粒子的流速变化非常敏感,能够检测生物组织内微小血管中的血液流

收稿日期: 2013-05-28; 收到修改稿日期: 2013-06-13; 网络出版日期: 2013-07-09

基金项目:国家自然科学基金(61275196,60978037,60878057)

作者简介:丁志华(1967-),男,教授,博士生导师,主要从事光电成像、生物医学光学、光学相干层析成像、光学高精检测等 方面的研究。E-mail: zh_ding@zju. edu. cn

本文电子版彩色效果请详见中国光学期刊网 www. opticsjournal. net

动。相位分辨方法通过计算相邻行扫描之间的相位变化来提取流速信息,是一种多普勒 OCT 中被广泛采 纳且非常实用的流速确定方法。但相位分辨法在低信噪比(SNR)环境下存在较大的偏差,会大大低估测量 值,并且对环境的扰动非常敏感。为此学者们发展了一些改进算法^[1],甚至放弃相位信息而采用强度信息来 区分血管与周围组织^[2],但仍然受到低信噪比的制约。为了能实现低信噪比条件下的多普勒 OCT 成像,我 们提出了高级互相关相位获取方法^[3]。

多普勒频移只能确定目标粒子平行于光束方向的速度分量,无法得到完整的矢量速度,这是传统多普勒 OCT系统的局限性。实际上,对活体生物组织进行实时成像时,其血管内的血流方向往往是不平行于光束 方向的,所以仅测量多普勒频移并不能完全确定血液流速的大小。随着多普勒OCT在各个应用领域的不 断发展,近年来不少研究组开展了矢量速度测量和三维血流速度成像的研究,提出了诸如多通道探测法^[4]、 三区分束器法^[5]、三维结构辅助法^[6-7]等。本课题组则提出了一种基于二区分束器的多普勒OCT矢量速度 测量方法,首次将渡越时间分析方法用于血流方向角的测量^[8]。

在渡越时间分析方法中,由于采用了光程编码的分束器后,可用成像深度降低到原系统设计成像量程的 1/3,不利于多普勒 OCT 系统用于深层血管的成像,因此,研制大量程的 SD-OCT 系统具有实际意义。事实 上,大量程的 SD-OCT 系统研究一直是 OCT 研究的重要方向之一。本课题组研制了一套基于虚像相控阵 列(VIPA)与光栅的正交色散 SD-OCT 系统^[9],该系统可以达到 80 mm 以上的成像量程。而且,正交色散光 谱仪利用二维探测器显著增加了光谱采样率,改进了系统的信噪比,对于提高多普勒 OCT 的相位获取高灵 敏度具有重要意义。

本文总结了以上几方面的研究进展,分别从 SD-OCT 系统与多普勒功能成像拓展和多普勒 OCT 的改进方法两方面进行了详细介绍。

2 SD-OCT 系统与多普勒功能成像拓展

2.1 SD-OCT 系统

图 1 为我们研制的用于多普勒成像的 SD-OCT 系统结构。由光源发出的低相干光(中心波长 835 nm, 3 dB带宽 45 nm,最大输出功率 12 mW)依次经过环形器和光纤耦合器(分光比为 50/50)后分别进入光纤型 迈克耳孙干涉仪的两臂——样品臂和参考臂。进入参考臂的光束被固定的反射镜反射。进入样品臂的光束 经过透镜和扫描振镜后被聚焦在被测样品上。扫描振镜用于控制光束在样品上的位置,实现被测样品的二 维横向扫描。样品臂中从被测样品返回的后向散射光与参考臂中返回的反射光在耦合器重新会合并发生干 涉。干涉光束经过光纤环形器进入自制的高速光栅型光谱仪,其干涉光谱数据被高速线阵 CCD 采集后输入 计算机进行后续的数据处理^[10-11]。



图 1 用于多普勒 OCT 成像的 SD-OCT 系统 Fig. 1 SD-OCT system for Doppler OCT imaging

2.2 多普勒功能成像拓展

SD-OCT 系统样品中的目标粒子存在沿光轴方向的速度时,其后向散射光的频率就会发生变化,产生多 普勒频移 f_D。如图 2 所示,其中 K_i和 K_s分别为入射光和散射光的波矢量,V 为运动粒子的速度矢量,α 为 流速方向和光束之间的夹角,λ为光在介质中的中心波 长。多普勒频移的表达式为

$$f_{\rm D} = \frac{2V\cos\alpha}{\lambda}.$$
 (1)

多普勒频移会导致 SD-OCT 系统光谱仪探测到的干涉 信号的相位发生改变。SD-OCT 系统中,线阵 CCD 探测 到的实干涉光谱信号 $I(\lambda)$ 经过光谱校正(λ 到波矢 k 空 间的映射)、去直流项和重新采样后,得到关于波矢 k 的 干涉信号 I(k)。对 I(k)进行傅里叶变换(FT)后得到与 样品深度位置 z 有关的复解析信号 $\tilde{I}(z) = \mathcal{F}{I(k)}$,其 幅值对应样品的结构信息,幅角则对应样品的相位信息。 通过比较第 m 个横向分辨单元内相邻 N 行轴向扫描信 号的相位信息,可以得到该横向点位置处不同轴向位置 z上的多普勒频移值:



图 2 流体中运动粒子引入的多普勒频移 Fig. 2 Doppler frequency shift induced by a moving particle within the fluid

$$f_{\rm D}(z,m) = \frac{\Delta \phi(z)}{2\pi T} = \frac{1}{2\pi T} \arctan\left\{ \frac{\operatorname{Im}\left[\sum_{j=1}^{N} \widetilde{T}_{j}(z) \widetilde{T}_{j+1}^{*}(z)\right]}{\operatorname{Re}\left[\sum_{j=1}^{N} \widetilde{T}_{j}(z) \widetilde{T}_{j+1}^{*}(z)\right]} \right\},\tag{2}$$

式中 T 为谱域 OCT 系统的光谱探测器的积分时间, \widetilde{I}_{j}^{*} 为 \widetilde{I}_{j} 的共轭项。一旦确定了频移值,则根据(1)式可以确定沿轴方向的速度。由此可见,多普勒 SD-OCT 和 SD-OCT 的系统是一致的,主要区别在于后续的 信号处理算法不同。

2.3 多普勒 OCT 的典型应用

2.3.1 小动物血流动态监测

将多普勒 OCT 应用于小鼠脑部血管血流的动态监测中^[12],研究了在光刺激、电刺激和药物刺激的条件 下小鼠脑部感觉皮层动脉血管内的血流速度。实验前将小鼠麻醉后剪开头皮,进行颅脑开窗暴露大脑硬脑 膜,并固定在立体定位仪上。图 3(a)为药物刺激时,微透析注射泵和小鼠连接情况。微透析注射泵可以对 小鼠静脉进行注射,并控制给药剂量和速度。图 3(b)为光刺激时红光照射小鼠情况。图 3(c)为电刺激时小 鼠腿部与电极连接情况。



图 3 小鼠在(a)药物刺激,(b)光刺激,(c)电刺激下进行多普勒 OCT 成像

Fig. 3 Doppler OCT imaging of a rat under (a) drug administration, (b) light stimulation, and (c) electrical stimulation

在药物刺激实验中,将一种从银杏中提取的药物舒血宁(SXN)通过微透析注射泵注入小鼠静脉。舒血 宁是一种常用的血管扩张药物,能减小血管内的血流速度。图4为注射舒血宁试剂后小鼠脑部血流随时间 变化关系。为减小了脉搏对测量血流速度的影响,血流速度取平均每分钟速度。图中测量时间负值表示在 药物注射前的血流速度,正值以后表示药物注射后的血流速度。绿色曲线和红色曲线为腹腔静脉注射舒血 宁后,分别用多普勒 OCT 系统和商业激光多普勒系统(Perimed 公司 PeriFlux Syetem 5000 激光多普勒系 统)测得的血流速度变化情况。蓝色曲线为颈部静脉注射舒血宁后多普勒 OCT 测得的脑部血流速度变化。

图 5(a)显示了不同频率下两种强度的光刺激对小鼠脑部血管血流速度的影响。光刺激加快了小鼠脑

部的血流速度,并且刺激频率越高,血流速度的增幅越 大。不同强度的光刺激之间的差异不明显,可能是因为 两种光刺激强度相差不大。图 5(b)显示了不同频率下 两种强度的电刺激对小鼠脑部血管血流速度的影响。电 刺激同样加快了小鼠脑部的血流速度,并且刺激一结束 血流速度就会降低并恢复正常。两种强度电刺激下,频 率越大,血流速度的增幅越大。通过对比两组实验发现, 相对于光刺激,电刺激对小鼠脑部血流速度的影响更大。 2.3.2 微流控芯片流场测量

SD-OCT 系统也可用于微流控芯片的评价^[13]。微 流控芯片的样品采用光学透明的聚二甲基硅氧烷 (PDMS)材料制成,利用 SU-8 软光刻技术制备,图 6(a) 显示了实验中使用的微流控芯片样品的显微图像。微流 场通道上表面为按照等边三角形排列的固定微柱,直径



图 4 注射舒血宁后小鼠脑部血流速度随时间的变化 Fig. 4 Blood flow velocity changes versus time under SXN administration

约 50 μm,微柱间距约 100 μm。下表面为表面等离子体传感器敏感面。图 6(b)为微流控芯片的横截面结构 图像。为了测量微流场的分布,使用浓度5%,直径与血细胞近似的聚苯乙烯小球悬浊液用来模拟血液样品在





图 5 (a)光刺激下小鼠脑部血流速度变化;(b)电刺激下小鼠脑部血流速度变化 Fig. 5 (a) Blood flow velocity versus pulse rate and intensity for light stimulation; (b) blood flow velocity versus frequency and amplitude for electrical stimulation



图 6 (a)微流控显微图像俯视图;(b)微流芯片横截面结构;(c)速度分布测量结果;(d)速度分布仿真结果 Fig. 6 (a) Top view of the fabricated microfluidic chip under microscope; (b) cross-sectional structure; (c) measured and (d) simulated velocity distributions

微流控芯片内的流动情况。图 6(c)显示了多普勒 OCT 测量得到的微流场分布情况,可以明显观察到微柱 阵列对微流场的介导效应,使得微流场通道内的上层液面有一定几率进入下层液面,导致上层液面内的细胞 被下层传感器的敏感面所俘获。图 6(d)为对应位置微流场分布的仿真结果。利用多普勒 OCT 获取流场信 息对于微流控芯片评价具有重要作用。

3 多普勒 OCT 的改进方法

3.1 高级互相关相位获取方法

在多普勒 OCT 成像中,相位分辨方法是目前广泛采用的流速提取算法,但在低信噪比情况下,会出现 较大的流速测量误差与成像噪声。鉴于生物组织中目标血管处的成像信噪比通常较低,学者们提出了一种 改进型相位分辨算法^[1],其特征是先实施平均降噪处理再进行相位提取,其多普勒频移由下式确定

$$f_{\rm D} = \frac{1}{2\pi T} \arctan\left\{\frac{{\rm Im}\left[\sum_{m=1}^{m=Mn=N-1} I_{m,n}(z,t) I_{m,n+1}^*(z,t)\right]}{{\rm Re}\left[\sum_{m=1}^{m=Mn=N-1} I_{m,n}(z,t) I_{m,n+1}^*(z,t)\right]}\right\}.$$
(3)

为降低现有相位提取算法对信噪比的敏感性,发展了一种基于高级互相关算法的相位获取与多普勒成 像方法。这种方法显著减小了多普勒 OCT 成像对相位不稳定性的敏感程度,并使得低信噪比条件下的流 速测量更加准确。

图 7(a) 描述了三级互相关多普勒成像方法的相位信息提取步骤。为了进一步研究互相关法在不同信 噪比情况下准确度的变化, 对相同运动速度情况的平面镜进行了多组测量, 每组测量 200 次来计算多普勒频 移的标准差来反映测量的稳定性, 其结果如图 7(b)所示。作为对比, 图中也给出了改进型相位分辨算法在 不同信噪比条件下的标准差分布。图 7(b)的圆点和方块分别对应了同一组数据在改进型相位分辨算法和 三级互相关算法下得到的结果。虚线和实线则对应了同一组模拟数据在这两种算法下得到的结果。从图 7 可以看出, 通过改进型相位分辨算法得到的结果的标准差, 在信噪比变低时迅速增加, 而通过互相关方法获 得的标准差在低信噪比条件下却没有明显退化。





Fig. 7 (a) Procedure of phase retrieval in the third-order cross-correlation method; (b) standard deviation (STD) of the retrieved Doppler frequency shifts versus SNR

低信噪比条件下对散射介质的多普勒成像说明互相关方法提高了流速测量的准确性。实验中,样品是 一个内含聚苯乙烯小球水溶液的毛细玻璃管。在通过衰减器产生的低信噪比条件下,对毛细玻璃管进行多 普勒成像。图 8(a)是毛细玻璃管的横截面结构图,顶部和底部表面的信噪比分别为 6.3 dB 和 0.4 dB。图 8(b) 和(c)分别为通过三级互相关方法和改进型相位分辨方法重建的多普勒图像,图 8(b)和(c)中黑线处的一维流 速分布分别显示在图 8(d)~(g)中。可以看出,在低信噪比条件下,高级互相关方法极大地抑制了通过相位分 辨方法重建多普勒图像时出现的噪声,获得了较为准确的结果。



图 8 (a)内含流动溶液的毛细管的多普勒图像;(b)通过三级互相关方法测量的多普勒频移;(c)通过改进的相位分辨方法 测量的多普勒频移;(d),(e)对应(b),(c)中黑线处横向多普勒频移分布;(f),(g)对应(b),(c)中黑线处轴向多普勒频 移分布

Fig. 8 (a) Doppler imaging of a glass capillary with flowing solution inside; (b) measured Doppler frequency shifts by the third-order cross-correlation method; (c) measured Doppler frequency shifts by the modified phase-resolved method;(d), (e) Doppler frequency shift distributions along lateral direction labeled by the black line in (b) and (c); (f),(g) Doppler frequency shift distribution along depth indicated by the black line in (b) and (c)

3.2 二区分束器与渡越时间分析方法

为了测量毛细管内三维矢量流速场分布,需要知道毛细管相对于探测光束的方向角。对毛细管进行三 维多普勒成像虽然可以确定其方向,但是需要消耗较长的时间,为此我们提出了用于矢量速度测量的二区分 束与渡越时间分析法。

多普勒频谱展宽是由散射粒子通过聚焦的探测光束的渡越时间决定的,在 SD-OCT 系统样品臂的准直 镜和聚焦透镜之间插入预知方向的窄带片,即光程编码二区分束器,形成三个具有不同光程延迟的子光束, 对应不同的焦斑形状,如图 9(a)所示。图 9(b),(c)分别给出了焦面上对应于二区(空气隙与玻片)归一化条 纹强度的模拟结果。



图 9 (a)探测光束中的狭缝玻片;焦面上分别对应于(b)空气缝和(c)玻璃的光强分布图案

Fig. 9 (a) Slit plate in the probing beam and the focusing patterns corresponding to (b) air slit and (c) glass of the slit plate

通过对探测到的光谱信号进行傅里叶变换,得到三个独立的对应不同光程的复信号。根据这三个复信 号测得的多普勒带宽可以计算出 90°范围内的方位角。再通过对方位角和多普勒频移和展宽测得的流速的 进一步计算便可得到目标的三维矢量速度。图 10显示了根据光程编码多普勒频移和带宽重建的毛细管矢 量速度的图像。其中 AA 表示从空气入射并从空气返回的子光束,AG 和 GA 分别表示以空气入射并从玻 璃返回和从玻璃入射并从空气返回的子光束,GG 表示入射和返回都通过玻璃的子光束。由于使用了延迟 编码的二区分束器,系统可用成像深度只能达到原设计成像深度的 1/3。因此,研制大量程的 SD-OCT 系统 显得十分必要。



图 10 由光程编码多普勒频移和带宽图像重建速度矢量轮廓。(a)光程编码多普勒频移和带宽图像;(b)速度矢量轮廓 Fig. 10 Reconstructed vector velocity profile from the path-length encoded Doppler shift and bandwidth images. (a) Path-length encoded Doppler shift and bandwidth images; (b) vector velocity profile

3.3 正交色散 SD-OCT 系统与相位成像

SD-OCT系统在深度方向的量程主要受限于光谱仪的光谱分辨率和光谱采样率。为了拓展 SD-OCT 系统的成像量程,研制了基于虚像相位阵列(VIPA)-光栅光谱仪的正交色散 SD-OCT系统。图 11(a)为正 交色散光谱仪的结构示意图。干涉光束通过准直镜和柱面透镜后在竖直方向(y方向)上会聚,成为沿水平 方向(x方向)的线状光。然后,具有高光谱分辨率和较窄的自由光谱范围的 VIPA 将入射的线状光在竖直 方向上色散;接着,具有大自由光谱范围的光栅把已经在竖直方向上色散的光束在水平方向上色散。 图 11(b)显示了 VIPA-光栅光谱仪 CCD 上记录的典型光谱。





正交色散光谱仪充分利用了 VIPA 的高光谱分辨率和光栅的大自由光谱范围特性,极大地提高了 SD-OCT 系统的光谱分辨率和光谱采样率,使得系统成像量程达到 80 mm,是目前为止世界上 SD-OCT 系统所 能达到的最大量程。光谱采样率的提升也提高了系统的信噪比。在针对光程差为 43.22 mm 的相位成像实 验中,得到的重复性优于 3 pm。据我们所知,这是基于 SD-OCT 系统相位成像方法所达到的最高灵敏度。 为了进一步展现正交色散 SD-OCT 系统的超大量程,对标称中心厚度为 17.877 mm 的光学透镜样品进行了

相位成像,其结果如图 12 所示。



图 12 基于相位的光学透镜三维重建图像 Fig. 12 Three-dimensional reconstructed phase imaging of an optical lens

4 结束语

研制了光纤型 SD-OCT 系统并拓展了多普勒成像功能,展示了 SD-OCT 系统在小动物成像研究与微流 控芯片评价中的重要应用。提出的高级互相关相位获取方法相比于传统相位分辨方法,可以有效抑制非相 关噪声,提高了低信噪比条件下深层血管成像的可行性。提出的二区分束与渡越时间分析法,将光程编码与 多图像相干合成概念引入 OCT 领域,解决了矢量速度的表征难题。研制的正交色散 SD-OCT 系统极大地 提高了系统的光谱分辨率和光谱采样率,实现系统成像量程达到 80 mm,是目前世界上已报道的量程最大 的 SD-OCT 系统。这些研究进展对于 OCT 及多普勒 OCT 性能的提升具有重要的促进作用。

参考文献

- 1 Anna Szkulmowska, Maciej Szkulmowski, Andrzej Kowalczyk, et al.. Phase-resolved Doppler optical coherence tomography-limitations and improvements[J]. Opt Lett, 2008, 33(3): 1425-1427.
- 2 Jennifer K Barton, Steven Stromski. Flow measurement without phase information in optical coherence tomography images [J]. Opt Express, 2005, 13(14): 5234-5239.
- 3 Huang L, Ding Z, Hong W, *et al.*. Higher-order cross-correlation-based Doppler optical coherence tomography[J]. Opt Letts, 2011, 36(22): 4314-4316.
- 4 A Royset, T Storen, F Stabo-Eeg, *et al.*. Quantitative measurements of flow velocity and direction using transversal Doppler optical coherence tomography[C]. SPIE, 2006, 6079: 607925.
- 5 Ahn Y C, Jung W, Chen Z. Quantification of a three-dimensional velocity vector using spectral-domain Doppler optical coherence tomography[J]. Opt Lett, 2007, 32(11): 1587-1589.
- 6 Michaely R, Bachmann A H, Villiger M L, *et al.*. Vectorial reconstruction of retinal blood flow in three dimensions measured with high resolution resonant Doppler Fourier domain optical coherence tomography[J]. J Biomed Opt, 2007, 12(4): 041213.
- 7 Wang Y, Bower B A, Izatt J A, *et al.*. *In vivo* total retinal blood flow measurement by Fourier domain Doppler optical coherence tomography[J]. J Biomed Opt, 2007, 12(4): 041215.
- 8 Meng J, Ding Z, Li J, *et al.*. Transit-time analysis based on delay-encoded beam shape for velocity vector quantification by spectral-domain Doppler optical coherence tomography[J]. Opt Express, 2010, 18(2): 1261-1270.
- 9 Wang C, Ding Z, Mei S, *et al.*. Ultra-long-range phase imaging with orthogonal dispersive spectral domain optical coherence tomography[J]. Opt Lett, 2012, 37(21): 4555-4557.
- 10 Wang K, Ding Z, Zeng Y, et al.. Sinusoidal BM method based spectral domain optical coherence tomography for the

elimination of complex-conjugate artifact[J]. Opt Express, 2009, 17(19): 16820-16833.

- 11 Wang K, Ding Z, Wu T, *et al.*. Development of a non-uniform discrete Fourier transform based high speed spectral domain optical coherence tomography system[J]. Opt Express, 2009, 17(14): 12121-12131.
- 12 Wang C, Yang Y, Ding Z, *et al.*. Monitoring of drug and stimulation induced cerebral blood flow velocity changes in rat sensory cortex using spectral domain Doppler optical coherence tomography[J]. J Biomed Opt, 2011, 16(4): 046001.
- 13 Wang C, Ding Z, Meng J, *et al.*. Simulation and measurement of flow field in microchip[J]. J Innovative Optical Health Sciences, 2010, 3(1): 25-30.