

# 基于光学相干层析成像的皮层血流高分辨率成像

高英哲<sup>1\*\*</sup>, 袁毅<sup>1\*\*\*</sup>, 马振鹤<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>燕山大学电气工程学院, 河北 秦皇岛 066004;

<sup>2</sup>东北大学秦皇岛分校控制工程学院, 河北 秦皇岛 066004

**摘要** 光学相干层析成像(OCT)技术具有非接触、分辨率高、采集速度快等优势,不仅能够显示样品的三维结构,而且能够检测样品中的运动信息。构建了高分辨率光谱 OCT 血管成像系统,系统横向分辨率约为  $6.7 \mu\text{m}$ ,纵向分辨率约为  $4.7 \mu\text{m}$ ,相机线采集速度 140 kHz,能够在 2 s 内完成三维扫描。在此基础上,通过相邻 B 扫描图像差分运算提取血流信息,实现血管成像。应用该系统扫描了大鼠大脑皮层的三维血管网络,实验结果表明,系统具有对毛细血管成像的能力。

**关键词** 成像系统; 光学相干层析成像; 高分辨率; 血管成像; 在体

中图分类号 R318.51

文献标识码 A

doi: 10.3788/LOP56.111101

## High-Resolution Cortical Blood Flow Imaging Based on Optical Coherence Tomography

Gao Yingzhe<sup>1\*\*</sup>, Yuan Yi<sup>1\*\*\*</sup>, Ma Zhenhe<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Electrical Engineering, Yanshan University, Qinhuangdao, Hebei 066004, China;

<sup>2</sup>School of Control Engineering, Northeastern University at Qinhuangdao, Qinhuangdao, Hebei 066004, China

**Abstract** Optical coherence tomography (OCT) is a non-contact imaging modality with advantages of high resolution and high acquisition speed. OCT can provide three-dimensional image structures and detect motion information in the samples. In this study, a high-resolution spectral OCT angiography system was constructed with the lateral and axial resolutions of about  $6.7 \mu\text{m}$  and about  $4.7 \mu\text{m}$ , respectively. The line scan camera was operated at 140 kHz and could complete a three-dimensional scan within 2 s. Based on this, the blood flow perfusion information was extracted by differentiating the adjacent B-scan images. A micro-vasculature network image of rat cerebral cortex was obtained. The experimental results demonstrate that the proposed system is suitable for capillary imaging.

**Key words** imaging systems; optical coherence tomography; high resolution; angiography; *in vivo*

**OCIS codes** 110.4500; 170.0110; 170.1650

## 1 引言

脑血管疾病患病率高、致残率高、复发率高、死亡率高,是当今世界危害人类生命健康最主要的疾病之一<sup>[1-3]</sup>。脑组织主要依赖葡萄糖的有氧氧化供给能量来进行生理活动。然而,脑组织内氧和葡萄糖的贮备甚微,这些物质完全靠血液运送。因此人

类脑组织对缺血的耐受性极低,血液供应一旦减少或中断,便难以满足脑组织对氧和葡萄糖的需求,从而引起脑细胞受损或坏死。可见,脑组织血流是脑血管疾病发病及治疗的关键因素,因此脑血管成像技术对相关疾病的诊断和研究至关重要<sup>[4-5]</sup>。

在基础研究中,小动物是常用的实验样品,因此小动物头部血管成像在脑血管疾病研究中有非常重

收稿日期: 2018-10-12; 修回日期: 2018-12-27; 录用日期: 2019-01-10

基金项目: 国家自然科学基金(31170956,61275214,81301208)、中央高校基本科研业务费(N120223001)、河北省自然科学基金(A2015501002,H2015501133)

\* E-mail: mazhenhe@163.com; \*\* E-mail: 617226922@qq.com; \*\*\* E-mail: yuanyi513@163.com

要的意义。传统的血管成像技术包括数字减影血管造影(DSA)、计算机断层扫描血管成像(CTA)、磁共振血管成像(MRA)等,这些技术都具有很好的穿透深度,不足之处是分辨率相对较低(最高约为 $100\ \mu\text{m}$ ),这一缺点在小动物血管成像中尤为突出<sup>[6]</sup>。另外,DSA和CTA需要注射造影剂,属于有创检测。超声多普勒技术能够测量较大血管的流速,但无法显示血管在组织内的分布情况。为了得到分辨率足够高的小动物头部血管成像,人们也尝试了光学成像技术,如内源性光学成像<sup>[7]</sup>、激光散斑成像<sup>[8]</sup>,但这些技术都是表面成像,没有穿透深度或穿透深度极浅。激光多普勒是比较常用的流速测量技术,但其分辨率相对较低,血管成像速度较慢<sup>[9]</sup>。光声成像技术近年来发展迅速,2005年Maslov等<sup>[10]</sup>提出了聚焦扫描光声成像技术,能够实现在体血管成像,但其光声成像需要声学接触(实验样品与声探测器之间需要水等耦合剂耦合声信号),这就限制了其应用。

光学相干层析成像(OCT)技术是一种具有深度分辨能力的非接触成像技术,具有成像速度快、分辨率高等优势,近年来受到越来越广泛的关注。1991年,Huang等<sup>[11]</sup>提出了OCT技术。早期OCT研究都是基于时域OCT,并在眼科应用中取得巨大成功<sup>[11-13]</sup>。虽然人们一直在努力提高扫描速度<sup>[14-15]</sup>,但是时域OCT需要参考臂进行深度方向扫描,其成像速度受到限制。2000年开始,频域OCT逐步取代时域OCT。频域OCT通过采集干涉光谱并经傅里叶变换重建深度方向的图像,无需参考臂的扫描,因而极大地提高了OCT的成像速度。Wojtkowski等<sup>[16]</sup>应用光谱OCT成像系统对视网膜进行了在体测量。贺琪欲等<sup>[17]</sup>实现了眼底OCT结构图像的快速采集,并对视网膜结构进行自动分层。速度的提高也推动了OCT技术的发展,逐步出现了各种功能成像,OCT血管成像就是其中之一。该技术能够将动态血流信息从静态的组织中分离,从而显示血流灌注图像。Wang等<sup>[18]</sup>首次提出基于光谱OCT的血管成像方法,并应用该技术对小鼠头部进行了血管成像。丁志华等<sup>[19]</sup>采用多普勒OCT对小鼠脑部血流进行了动态监测。陈俊波等<sup>[20]</sup>利用动态散斑OCT技术对鼠耳血管进行了成像。总之,OCT血管成像技术能够高分辨率地显示小动物头部血流的分布情况,无需造影剂,是脑血管相关疾病研究的重要工具。

本文首先构建了中心波长为 $820\ \text{nm}$ 的快速、高分辨率光谱OCT系统,并对系统的横向、纵向分辨率分别进行分析;提出基于光谱矫正的色散补偿方法,使系统实际纵向分辨率接近理论值;阐述了基于OCT的血管成像方法,并对大鼠的大脑皮层毛细血管网进行三维成像。结果表明,OCT能够清晰显示小动物皮层的血流灌注情况。OCT血管成像将成为脑血管疾病基础医学研究的强有力的工具之一。

## 2 基本原理与方法

### 2.1 光谱OCT系统

采用光谱OCT系统,主要干涉光路基于光纤构建,系统结构如图1所示。系统光源为超辐射发光二极管(SLD),中心波长为 $820\ \text{nm}$ ,带宽为 $80\ \text{nm}$ 。光谱OCT的测量原理是光谱干涉。宽带光源发出的光经过光纤耦合器被分为两路,分别入射到参考臂和样品臂。样品臂的光束经准直器、二维扫描振镜、双胶合透镜(焦距为 $30\ \text{mm}$ )聚焦在大鼠皮层,入射功率约为 $3\ \text{mW}$ 。样品中的后向散射光原路返回,并与平面反射镜反射回来的参考光发生干涉。干涉信号经光栅分光并聚焦到线阵CCD相机(2048 pixel)。线阵相机以 $140\ \text{kHz}$ 的速度采集干涉光谱,经图像采集卡(NI-PCIe 1433,美国国家仪器公司,美国)传输到计算机。系统三维结构( $500\times 500\times 2048, X\times Y\times Z$ )的扫描采集时间低于 $2\ \text{s}$ 。振镜由数据采集卡模拟输出口控制,可实现 $X$ 与 $Y$ 方向的同步扫描。二维扫描与干涉光谱经傅里叶变换得到的深度分辨信息结合,可以得到三维图像。光谱OCT图像由干涉光谱在波数空间傅里叶变换得到。OCT血管成像基于OCT图像中运动信息的提取,即血液流动引入的信号变化。血细

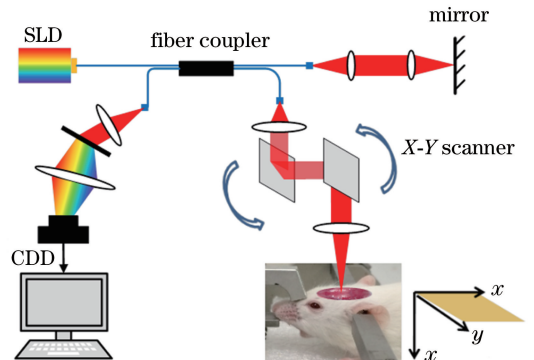


图1 光谱OCT血管成像系统

Fig. 1 Schematic of spectral OCT angiography system

胞运动会引入强度及相位变化,相邻图像的差分运算能够有效抑制静态组织信号,获取血流图像<sup>[21]</sup>。

### 2.2 OCT 系统分辨率

高分辨率是 OCT 技术的优势,技术上分辨率可分为横向和纵向两种,分别由不同因素决定。因此,要达到较高的横向和纵向分辨率需通过不同的器件与技术来实现。

#### 2.2.1 横向分辨率

OCT 的横向分辨率主要由聚焦能力,即由光在样品中传播和聚集的方式决定。高斯光束是光束传播模型的一个较好的近似,理论上高斯光束的最小光腰直径即为横向分辨率。对于 OCT 系统而言,光腰直径越小,系统的横向分辨率越高。即

$$\Delta x = \frac{4\lambda}{\pi} \cdot \frac{f}{d}, \quad (1)$$

式中: $\lambda$  为宽带光源的中心波长; $f$  为物镜的焦距; $d$  为入射到物镜上的光斑直径。可见横向分辨率与光源中心波长和物镜焦距成反比,通常采用降低光源中心波长或物镜焦距的方式来提高 OCT 的横向分辨率。系统中光纤数值孔径为 0.14,准直器的焦距为 18.67 mm,因而光纤射出时的光斑(即入射到物镜上的光斑)的理论直径  $d = 5.2276$  mm,实际测量值为 5.4 mm。经过扫描透镜与显微物镜聚焦,理论横向分辨率约为  $6 \mu\text{m}$ 。

系统横向分辨率的测量采用刀口法。将刀片固定于纳米级位移台 (P-620.1CD, Physik Instrumente, 德国) 上,探测光保持静止,驱动平移台(步长为  $0.1 \mu\text{m}$ ) 使刀口切过聚焦光斑,采集 OCT 信号强度变化曲线,结果如图 2 所示。曲线经过平滑处理后取一阶微分得到系统的横向线扩展函数,取其半峰全宽约为  $6.7 \mu\text{m}$ ,与理论值基本吻合。

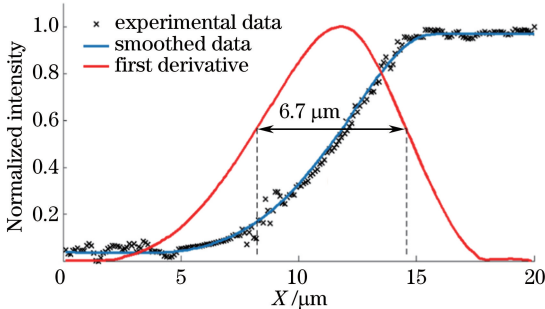


图 2 刀口法横向分辨率测量结果

Fig. 2 Lateral resolution measurement with knife edge method

#### 2.2.2 纵向分辨率

理论上,OCT 系统的纵向分辨率由相干长度决

定,即光源光谱傅里叶变换的半峰全宽。若光源光谱为高斯分布,其纵向分辨率为

$$\Delta z = \frac{2\ln 2}{\pi} \cdot \frac{\lambda^2}{\Delta\lambda}, \quad (2)$$

式中: $\Delta\lambda$  为光源有效带宽(半峰全宽)。可见,OCT 系统的纵向分辨率反比于光源的光谱带宽  $\Delta\lambda$ 。根据(2)式计算可得采用系统的理论纵向分辨率约为  $4 \mu\text{m}$ 。

使用平面反射镜作为样品,采集干涉光谱  $S(\lambda)$ ,其中  $\lambda$  是波长,将此光谱从波长空间转换到波数空间并等间隔插值到光谱  $S(k)$ 。色散最终表现为光谱变形,色散补偿就是要校正变形光谱。为此,将  $S(k)$  的横坐标表示为

$$k(n) = c_0 + c_1(n-1) + c_2(n-1)^2 + \dots + c_k(n-1)^k, n=1,2,\dots,N, \quad (3)$$

式中: $c_k$  为  $k$  阶光谱坐标校正系数; $c_0$  为光谱起始偏移量(可由波长空间光谱坐标直接计算得到); $c_1$  为光谱仪的分辨率; $N = 2048$  为光谱像素个数; $n$  为离散采样点即相机的像素点。二阶以上的校正系数主要是校正光谱的非线性变形。以信号半峰全宽最小为标准,求得  $c_1, c_2, c_3$  即可实现光谱形状的校正。实验表明,二阶、三阶光谱校正系数对于降低色散影响效果较为明显。图 3 显示了色散补偿的效果,样品为平面反射镜(置于光程差  $500 \mu\text{m}$  处)。由于平面反射镜可以视为厚度为零的理想反射样品,其 OCT 信号轴向分布曲线的半峰全宽即为纵向分辨率。由图 3 可知,无色散补偿情况下其半峰全宽约为  $21 \mu\text{m}$ ,经色散补偿后,半峰全宽为  $4.7 \mu\text{m}$ 。可以看出,经过基于光谱校正的色散补偿算法处理后,系统纵向分辨率得到显著改进,但与理论值仍有差距,这与多种因素相关。(2)式中光源光谱为理想的高斯光谱,而实际光源多为光谱类高斯分布,导致分辨率降低。光谱 OCT 图像信息是经干涉光谱傅里叶变换得到的,其纵向分辨率的决定因素是傅里叶变换的不确定性。傅里叶变换是在波

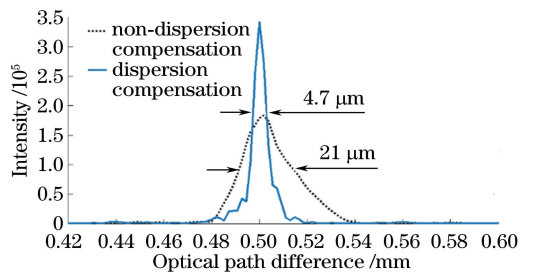


图 3 消除色散对分辨率的影响

Fig. 3 Dispersion compensation for axial resolution maintaining



数空间进行的,而 OCT 系统采用的是光栅分光,即在波长空间等间隔展开。因此,实测光谱需要等间隔插值到波数后作傅里叶变换运算,这一过程也会降低纵向分辨率。另外,提出的色散补偿方法属于算法补偿,只能在一定程度上消除色散的影响。在参考臂增加色散光学元件(玻璃、水等)进行色散补偿,同时结合算法补偿,有可能进一步消除色散的影响,使实际分辨率与理论值更为接近。

### 2.3 动物准备

研究采用 3 个月大、体重 250 g 左右的 SD (Sprague-Dawley)大鼠,动物实验流程严格按照东北大学动物伦理和行政管理委员会的规定来进行,尽可能减少动物的痛苦和使用动物的数量。使用特定浓度的戊巴比妥钠(3%, 5 mg/100 g, IP)作为麻醉剂。麻醉后的大鼠用耳杆和适配器固定于脑立体定位仪上,头部用质量分数为 0.9%的生理盐水清洗干净,并剃除头顶处的毛。之后将头顶皮肤沿大脑中缝处剪开缺口,用 4 把止血钳将皮肤分别向四周拉开,充分暴露头骨,去除头骨上的骨膜。为了获取更加清晰的血流图像,使用直径为 1.2 mm 的颅骨钻将头骨打磨至合适的厚度。手术结束后,将大鼠放置在光谱 OCT 的样品臂下,准备采集数据。整个实验期间,动物的体温保持在 35.5~36.5 °C。

## 3 结果与讨论

毛细血管的平均尺寸约为 10  $\mu\text{m}$ ,系统的横向、纵向分辨率均小于毛细血管平均尺寸,可以实现对毛细血管的成像。应用上述光谱 OCT 血管成像技术,对大鼠的大脑进行成像与可视化处理。图 4 所

示为大鼠大脑皮层在体成像的结果。图 4(a)展示了一幅具有代表性的 OCT 结构图像(B-scan),可以清晰地分辨出脑硬膜和脑皮层结构(箭头)。由于脑硬膜和脑皮层中均包含非常丰富的毛细血管网络,因此,在应用 OCT 对脑血管进行成像时,脑硬膜血管和脑皮层血管将同时被系统检测到。图 4(b)是与图 4(a)对应的 OCT 血管图像。箭头 1 所指为脑硬膜血管,该类血管普遍尺寸偏小,位于脑皮层血管之上,需要系统有足够的纵向分辨率才能检测出脑硬膜血管。箭头 2 所指为脑皮层中的大血管,该类血管尺寸较大,血流速度较快。

图 4(c)显示了一幅三维 OCT 血管图的 X-Y 平面投影,包含脑硬膜血管和脑皮层血管。箭头 1 和 2 分别与图 4(b)中箭头相对应。横线对应图 4(a)、(b)的所在位置。图 4(d)所示为该血管图像的三维显示,可以观察到组织内部不同深度的血管细节。使用自行编写的基于 MATLAB 的图像分割算法,可以对 OCT 血管图像进行分割操作,图 4(e)和 (f)分别显示了分割后的脑硬膜血管图像和脑皮层血管图像。分割后的血管图像更加清晰、直观,更便于科研人员的基础研究和医生的临床诊断。

对局部血管网络的成像很难满足需求,为了更全面地研究血管走向,人们希望得到范围更大,甚至是整个大脑的血管图像。图 5 为完整的大鼠大脑皮层血管图像,不包含脑硬膜血管。整幅图像尺寸为 12 mm $\times$ 8 mm。该图像由 24 幅子图拼接而成,包括 4 行 6 列。其中,每幅子图尺寸为 2 mm $\times$ 2 mm。图中不仅清晰地显示了密集的毛细血管,而且成像范围大,适用于病灶区与正常区血流灌注对比。

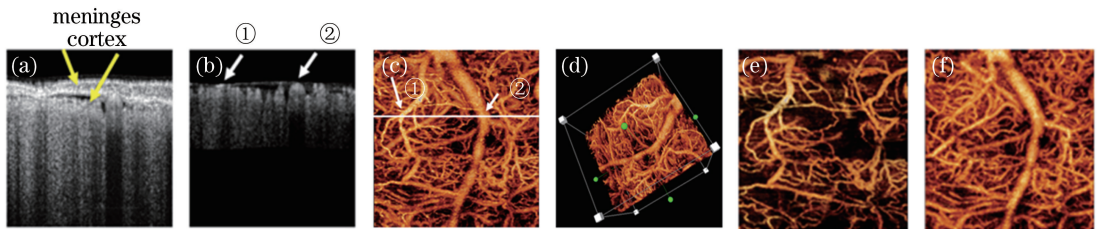


图 4 高分辨率光谱 OCT 血管成像结果。(a) OCT 二维结构图;(b) OCT 二维血管成像图,①为脑硬膜血管,②为脑皮层大血管;(c) OCT 血管图像 X-Y 平面投影显示;(d) OCT 血管图像三维显示;(e)脑硬膜血管图;(f)大脑皮层血管图  
Fig. 4 High-resolution imaging results by spectral OCT angiography system. (a) Image of two-dimensional structure by OCT; (b) image of flow signal by OCT with ① and ② indicating dural blood vessels and large blood vessels on cerebral cortex, respectively; (c) X-Y projection display of OCT vascular image; (d) three-dimensional display of OCT vascular images; (e) cerebral dural vascular image; (f) cerebral cortical vascular image

## 4 结 论

毛细血管是新陈代谢物质交换的场所,在人体

代谢中起重要作用,因此毛细血管的血流成像在基础研究中意义重大。但是毛细血管直径小,需要成像系统具有较高的分辨率。本系统的另一个优势在

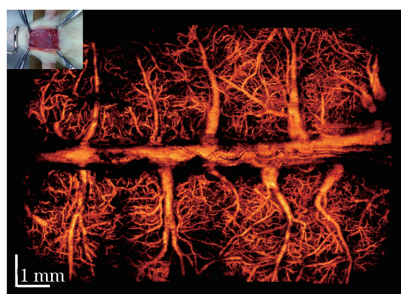


图5 大鼠全脑血管图像,左上插图所示为  
大鼠大脑实物图

Fig. 5 Whole cerebral vascular image with rat brain  
photograph shown in upper-left corner

于扫描速度快,血管成像能在几秒钟内完成,减少了在体成像中运动伪影的干扰。OCT 血管成像技术无须接触样品、无需造影剂,成像过程对样品没有刺激,与其他血管成像技术相比具有明显的优势。介绍了光谱 OCT 的系统结构和成像原理,分析了横向分辨率、纵向分辨率的决定因素,构建了高分辨率的 OCT 血管成像系统。应用该系统对大鼠脑皮层血流灌注情况进行成像,实验结果证实了该技术对毛细血管成像的能力,为今后的脑血管疾病相关研究提供了有效工具。

### 参 考 文 献

[1] Zhang X F, Hu D Y, Ding R J, *et al.* Status and trend of cardio-cerebral-vascular diseases mortality in China[J]. Chinese Journal of Hypertension, 2012, 40(3): 600.  
张啸飞, 胡大一, 丁荣晶, 等. 中国心脑血管疾病死亡现状及流行趋势[J]. 中华高血压杂志, 2012, 40(3): 600.

[2] Li G Q, Fan J, Liu J, *et al.* Impact of cerebrovascular disease mortality on life expectancy in China[J]. Biomedical and Environmental Sciences, 2014, 27(3): 169-175.

[3] Mozaffarian D, Benjamin E J, Go A S, *et al.* Heart disease and stroke statistics: 2015 update [J]. Circulation, 2015, 131(4): e29-e322.

[4] Suzuki Y, Nagai N, Umemura K. A review of the mechanisms of blood-brain barrier permeability by tissue-type plasminogen activator treatment for cerebral ischemia [J]. Frontiers in Cellular Neuroscience, 2016, 10: 2.

[5] del Zoppo G J, Hallenbeck J M. Advances in the vascular pathophysiology of ischemic stroke [J]. Thrombosis Research, 2000, 98(3): 73-81.

[6] Kornguth S, Anderson M, Markley J L, *et al.* Near-microscopic magnetic resonance imaging of the brains of phenylalanine hydroxylase-deficient mice, normal littermates, and of normal BALB/c mice at 9.4 tesla [J]. NeuroImage, 1994, 1(3): 220-229.

[7] Grinvald A, Lieke E, Frostig R D, *et al.* Functional architecture of cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals[J]. Nature, 1986, 324(6095): 361-364.

[8] Dunn A K, Bolay H, Moskowitz M A, *et al.* Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle [J]. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 2001, 21(3): 195-201.

[9] Nielsen A N, Fabricius M, Lauritzen M. Scanning laser-Doppler flowmetry of rat cerebral circulation during cortical spreading depression [J]. Journal of Vascular Research, 2000, 37(6): 513-522.

[10] Maslov K, Stoica G, Wang L V. *In vivo* dark-field reflection-mode photoacoustic microscopy[J]. Optics Letters, 2005, 30(6): 625-627.

[11] Huang D, Swanson E A, Lin C P, *et al.* Optical coherence tomography [J]. Science, 1991, 254(5035): 1178-1181.

[12] Fercher A F. *In-vivo* optical coherence tomography in ophthalmology [J]. Proceedings of SPIE, 1993, 10311: 103110L.

[13] Fercher A F, Hitzenberger C K, Kamp G, *et al.* Measurement of intraocular distances by backscattering spectral interferometry [J]. Optics Communications, 1995, 117(1/2): 43-48.

[14] Thrane L, Frosz M H, Jørgensen T M, *et al.* Extraction of optical scattering parameters and attenuation compensation in optical coherence tomography images of multilayered tissue structures [J]. Optics Letters, 2004, 29(14): 1641-1643.

[15] Oldenburg A L, Reynolds J J, Marks D L, *et al.* Fast-Fourier-domain delay line for *in vivo* optical coherence tomography with a polygonal scanner[J]. Applied Optics, 2003, 42(22): 4606-4611.

[16] Wojtkowski M, Leitgeb R, Kowalczyk A, *et al.* *In vivo* human retinal imaging by Fourier domain optical coherence tomography [J]. Journal of Biomedical Optics, 2002, 7(3): 457-463.

[17] He Q Y, Li Z L, Wang X Z, *et al.* Automated retinal layer segmentation based on optical coherence tomographic images [J]. Acta Optica Sinica, 2016, 36(10): 1011003.  
贺琪欲, 李中梁, 王向朝, 等. 基于光学相干层析成

- 像的视网膜图像自动分层方法[J]. 光学学报, 2016, 36(10): 1011003.
- [18] Wang R K, Jacques S L, Ma Z H, *et al.* Three dimensional optical angiography[J]. Optics Express, 2007, 15(7): 4083-4097.
- [19] Ding Z H, Zhao C, Bao W, *et al.* Advances in Doppler optical coherence tomography[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2013, 50(8): 080005.  
丁志华, 赵晨, 鲍文, 等. 多普勒光学相干层析成像研究进展[J]. 激光与光电子学进展, 2013, 50(8): 080005.
- [20] Chen J B, Zeng Y G, Yuan Z L, *et al.* Optical coherence tomography based on dynamic speckle[J]. Acta Optica Sinica, 2018, 38(1): 0111001.  
陈俊波, 曾亚光, 袁治灵, 等. 基于动态散斑的光学相干层析成像技术[J]. 光学学报, 2018, 38(1): 0111001.
- [21] Liu J, Ma Y S, Dou S D, *et al.* Hemodynamic changes in a rat parietal cortex after endothelin-1-induced middle cerebral artery occlusion monitored by optical coherence tomography [J]. Journal of Biomedical Optics, 2016, 21(7): 075014.