

基于 Monte-Carlo 模拟的光纤探头的设计以及探头在皮肤 NADH 荧光光谱测量中的应用

杨明, 孙全昌, 侯华毅*

武汉工程大学光学信息与模式识别湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430205

摘要 研发了一套血流介导皮肤荧光光谱(FMSF)检测系统,该系统可以非侵入性地检测人体皮肤内烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)荧光光谱的动态变化;对该系统中的荧光探头进行了仿真设计,以提高 NADH 荧光的收集效率。首先构建人体 7 层皮肤结构模型,采用蒙特卡罗(Monte-Carlo)方法模拟组织中光子的传输规律;然后探究了收集光纤的纤芯直径、激发光纤与收集光纤的近边缘距离、光纤探头与皮肤之间的距离等对荧光光谱检测的影响;最后根据模拟结果研制了一套光纤探头,并将其应用于皮肤 NADH 荧光光谱检测系统中。结果表明:采用该系统结合闭塞后反应性充血可以在体检测 NADH 荧光光谱,光谱强度呈现一种明显的动态变化。与现有技术相比,基于 FMSF 技术的皮肤 NADH 检测方法具有测量速度快、无创等优势,为研究线粒体能量代谢及糖尿病等相关疾病提供了先进的技术手段。

关键词 医用光学; 荧光光谱; 光纤探头; 无创检测; 蒙特卡罗模拟

中图分类号 O433.1

文献标志码 A

doi: 10.3788/LOP202158.2217002

Design of Fiber-Optics Probe Based on Monte-Carlo Simulation and Application of the Probe in Fluorescence Spectrum Measurement of Nicotinamide Adenine Dinucleotide in Skin

Yang Ming, Sun Quanchang, Hou Huayi*

Hubei Key Laboratory of Optical Information and Pattern Recognition, Wuhan Institute of Technology, Wuhan, Hubei 430205, China

Abstract A blood flow-mediated skin fluorescence spectrum (FMSF) detection system was developed to noninvasively detect the dynamic changes of the fluorescence spectrum of nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) in the human skin. The fluorescence probe in the system was simulated and designed to improve the collection efficiency of the NADH fluorescence. First, we constructed a seven-layer human skin structure model and used the Monte-Carlo method for simulating the transmission of photons in tissues. Then, we investigated the influence of the core diameter of the collection fiber-optics, distance between the excitation and collection fiber-optics, and distance between the fiber-optics probe and skin on the fluorescence spectrum detection. Finally, we developed a fiber-optics probe according to the simulation results and applied it to the skin NADH fluorescence spectrum detection. The results show that the NADH fluorescence spectrum can be measured using the FMSF detection system with post occlusion reactive hyperemia, and the NADH fluorescence intensity shows a dynamic change. Compared with the existing technology, the skin NADH detection method based on FMSF technology has the advantages of rapid measurement and noninvasion; thus, providing advanced technology for studying mitochondrial energy metabolism, diabetes, and other related diseases.

收稿日期: 2020-12-14; 修回日期: 2021-01-14; 录用日期: 2021-02-01

基金项目: 湖北省自然科学基金(2020CFB380)、湖北省教育厅科研计划(Q20191506)、武汉工程大学科学基金(18QD26)

通信作者: *hhy@wit.edu.cn

Key words medical optics; fluorescence spectrum; fiber-optics probe; noninvasive testing; Monte-Carlo simulation
OCIS codes 170.6280; 120.4570; 300.6280

1 引言

线粒体中的细胞能量代谢紊乱可能是多种疾病的表现,包括糖尿病、癌症和心血管疾病等^[1-2]。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸在胞浆、细胞器、细胞核和线粒体中合成^[3],并以氧化态(NAD^+)和还原态(NADH)两种形式存在。国内外研究人员发现皮肤组织中 NAD^+ 或 NADH 的含量,可以作为判断线粒体是否发生功能障碍的标志^[4]。因此,无创连续地监测人体内 NADH 的动态变化对于相关疾病的预防具有重要意义。

NAD^+ 或 NADH 含量的测定方法主要包括分光光度法、生物发光酶法和荧光法。荧光法^[5]被广泛应用于许多溶液、细胞、组织和器官(如脑、肝或皮肤)中 NADH 的含量检测。血流介导皮肤荧光光谱(FMSF)技术通过调控组织缺血及反应性充血过程来改变皮肤组织局部血氧的供给情况,通过监测组织荧光光谱的动态变化特性,可以得到组织的生理病理信息^[6]。较之传统的光学检测手段,FMSF 技术可以在体监测受试者的线粒体功能,进而反馈微血管功能,具有更高的灵敏度。Piotrowski 等^[7]的研究表明,采用 FMSF 方法测得的 NADH 的荧光光谱与阻断后反应性充血(PORH)结果具有较好的相关性。Hellmann 等^[8]采用 FMSF 技术检测了健康受试者与冠心病患者皮肤中 NADH 的荧光光谱,并将检测结果与激光多普勒血流(LDF)方法进行对比;结果表明,通过 NADH 荧光光谱法筛查冠心病的敏感性较高,并且具有比 LDF 方法更高的可重复性。

人体皮肤是一种具有多层结构的复杂非均匀介质,其中分布着众多的吸收和散射颗粒,这些颗粒会对入射到组织中的激发光和发射的荧光造成不同程度的畸变。为了确认所测量的 NADH 荧光强度与其含量水平成正比,并且是细胞代谢状态的真实指示,而不是皮肤光学特性的假象,本课题组运用蒙特卡罗(Monte-Carlo)方法研究了 NADH 特征波长(激发波长为 340 nm,发射波长为 460 nm)下光子在分层皮肤组织中的传输规律,得到了检测距离、探测深度与荧光强度之间的关系。另外,本课题组探究了光纤探头的不同特性参数(如收集光纤芯径、发射光纤与收集光纤间距等)对荧光光谱检测的影响,然后根据此影响规律设计了相应的光纤探头,并开展

了在体实验。结果表明,在人体缺血和反应性充血过程中,系统能有效地探测到皮肤内 NADH 的荧光强度变化。这些研究结果为在体无创检测 NADH 的荧光光谱,以及后续的临床研究提供了理论与实验基础。同时,本课题组设计的光纤探头可以推广到皮肤中其他荧光物质或组织代谢的在体测量中。

2 基本原理与方法

2.1 皮肤的 7 层结构模型及光学特性参数计算

人体皮肤组织是由多层不同结构构成的,可简单地划分为表皮、真皮和皮下组织三层。皮肤组织相当于具有高度散射特性的混沌介质^[9]。传统模型采用的是两层或三层皮肤组织结构,但是,表皮和真皮层具有层流结构,有两个或更多的亚层,且真皮层中的血管系统分布不均匀,血红蛋白的氧饱和度也分布不均匀,纤维素的体积和分布也可能不同;因此,不能简单地假设表皮和真皮的吸收、散射是均匀的^[10]。 NADH 的荧光团主要位于表皮层,位置是表皮以下 0.1~0.2 mm 的深度范围内,对其进行测量需要考虑血液和水的分布情况,采用常规的三层皮肤组织模型可能会使结果产生较大误差。同时,在对 NADH 荧光光谱的动态变化进行检测时,手臂皮肤组织需要经历缺血和阻断反应性充血过程;因此,在建立皮肤结构模型时,需要考虑皮肤组织中血液体积分数的变化可能对模拟结果产生的影响。本课题组建立了 7 层皮肤组织模型,可以设置 7 层皮肤中每一层的光学和几何参数为不同值,从而模拟不同条件下的皮肤荧光光谱。在 7 层结构模型中,皮肤组织被更精确地分为角质层(L1)、表皮层(L2)、乳头状真皮层(L3)、上层血管网状真皮层(L4)、网状真皮层(L5)、深层血管网状真皮层(L6)和皮下组织层(L7)。7 层皮肤结构模型如图 1 所示。

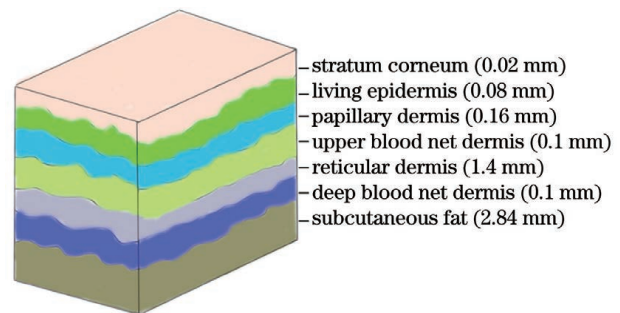


图 1 7 层皮肤结构图

Fig. 1 Seven-layer skin model

皮肤的光学特性参数可由吸收系数(μ_a)、散射系数(μ_s)、折射率(n)以及各向异性因子(g)来表示,这些光学特性参数包含了丰富的组织结构状态和代谢生理特征^[11]。皮肤层的吸收系数可以表示为不同吸收剂的吸收之和,即

$$\mu_a(\lambda) = \sum_{i=1}^m [\mu_a^{(i)}(\lambda) C_i \prod_{j=1}^{i-1} (1 - C_j)] + \mu_a^{(0)}(\lambda) \prod_{i=1}^m (1 - C_i), \quad (1)$$

其中,

$$\mu_a^{layer}(\lambda) = (1 - S)\gamma C_{blood} \mu_a^{Hb}(\lambda) + S\gamma C_{blood} \mu_a^{HbO_2}(\lambda) + (1 - \gamma C_{blood}) C_{H_2O} \mu_a^{H_2O}(\lambda) + (1 - \gamma C_{blood})(1 - C_{H_2O}) \mu_a^{(0)}(\lambda), \quad (3)$$

式中: $\mu_a^{HbO_2}(\lambda)$ 、 $\mu_a^{Hb}(\lambda)$ 、 $\mu_a^{H_2O}(\lambda)$ 分别表示氧合血红蛋白、脱氧血红蛋白和水的吸收系数。模拟时认为其他参数的值对正常皮肤和皮肤血液是典型的,定义 $\gamma=0.11$ 和 $S=0.6$ 。

对于各皮肤层的散射系数(μ_s),采用约化散射系数(μ'_s)进行计算。各皮肤层约化散射系数通过依赖于波长的幂来描述,即

$$\mu'_s(\lambda) = \mu'_s(\lambda_0) \left(\frac{\lambda}{\lambda_0}\right)^{-b}, \quad (4)$$

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

式中: $\mu'_s(\lambda_0)$ 表示特定波长下的约化散射系数,这里

表 1 计算吸收系数的各项参数以及模拟分层组织的其他特性参数^[12]

Table 1 Parameters for calculating absorption coefficient and other characteristic parameters for simulating layered structures^[12]

Skin layer	Thickness $d / \mu\text{m}$	C_{blood}	C_{water}	n	$\mu_s(632.8 \text{ nm}) / \text{mm}^{-1}$	g	
						340 nm	460 nm
Stratum corneum	20	0	0.05	1.45	100	0.72	0.750
Living epidermis	80	0	0.2	1.40	45	0.72	0.750
Papillary dermis	160	0.04	0.5	1.40	30	0.72	0.750
Upper blood net dermis	100	0.3	0.6	1.39	35	0.60	0.773
Reticular dermis	1400	0.04	0.7	1.40	25	0.72	0.750
Deep blood net dermis	100	0.1	0.7	1.34	30	0.95	0.957
Subcutaneous fat	2840	0.05	0.7	1.46	—	—	—

2.2 Monte-Carlo 模拟光子在皮肤组织中的传输过程

Monte-Carlo 方法是一种模拟随机抽样的统计学方法,该方法可以灵活地考虑边界条件、光学参数等,已成为模拟光在组织中传输的常用方法^[13]。在

$$\mu_a^{(0)}(\lambda) = 7.84 \times 10^7 \times \lambda^{-3.255}, \quad (2)$$

式中: λ 为光的波长; C_i 是给定皮肤层中第*i*种吸收剂(如血液、水或黑色素)的体积分数; m 是给定皮肤层中所含吸收剂的总数; $\mu_a^{(i)}$ 表示第*i*层的吸收系数; $\mu_a^{(0)}(\lambda)$ 是不含任何吸收剂时介质的固有吸收引起的吸收系数。

在皮肤血氧饱和度(S)和血红蛋白的总体积分数(γ)一定的情况下,结合(1)式,可将真皮层的吸收系数 $\mu_a^{layer}(\lambda)$ 表示为

$\lambda_0=632.8 \text{ nm}$; b 为常数。根据文献^[12]所述,可取 $b=1.4$ 。根据表 1 中给出的 632.8 nm 处各皮肤层的散射系数,将散射系数 μ_s 推广到相应波长。

真皮和表皮在 300~1300 nm 波长范围内的各向异性因子 g 在某一固定波长时可认为是不变的,即

$$g = 0.62 + \lambda \times 0.29 \times 10^{-3}. \quad (6)$$

用于计算皮肤层吸收系数 μ_a 的各项参数以及分层组织的其他光学特性参数如表 1 所示,其中,折射率 n 是与波长无关的变量, C_{blood} 、 C_{water} 分别表示血液和水的体积分数。

Monte-Carlo 模拟中,计算机根据吸收系数 μ_a 、散射系数 μ_s 、折射率 n 以及各向异性因子 g 等光学参数计算组织中单个光子的移动轨迹。光子每移动一个步长,其方向和光子的权重都会发生改变。当光子运动到组织边界时,反射系数和透射系数用菲涅耳

公式进行计算。光子一直被跟踪,直到它从组织中出来,或者它的权重降到阈值以下。

本课题组在 Wang 等^[14]算法的基础上编写相应的仿真程序,整个模拟计算过程使用的软件平台为 MATLAB (R2018a)。基于建立的 7 层皮肤组织,根据(1)~(6)式及表 1 所给数据,分别求出 $\lambda_1=340\text{ nm}$ 和 $\lambda_2=460\text{ nm}$ 时分层组织中的光学参数 μ_{ai} 、 μ_{si} 、 g_i 、 n_i ,并将各皮肤层在特定波长下的光学参数赋予到程序中。为了获得稳定的模拟结果,通常需要 $10^5\sim 10^7$ 个光子。本研究中,设定发射的总光子数为 10^7 个。假定入射光子的权重为 1,设定阈值为 10^{-6} ,当光子的权重低于阈值时,结束对该光子的跟踪。

2.3 基于光纤探头的皮肤 NADH 荧光光谱检测原理

NADH 具有荧光特性,当采用波长为 $320\sim 380\text{ nm}$ 的紫外辐射吸收带激发时,最大吸收峰位于 340 nm 处,产生 $420\sim 480\text{ nm}$ 的荧光发射带,最大

峰位于 460 nm ^[15];当采用紫外波段的激发光激发时,皮肤组织中的 NADH 荧光团经入射光激发后发射荧光,荧光经过多次散射和吸收返回皮肤表面并进入空气中。受皮肤组织吸收、散射的影响,传播到表面的 NADH 荧光信号极其微弱,传统探测器很难采集到荧光信号^[16-17]。此外,人体皮肤组织中的色氨酸、黄素、弹性蛋白、胶原蛋白等物质所产生的荧光也会对 NADH 的荧光探测产生干扰^[18]。有研究人员认为,可以采用基于光纤探头的方法进行定向分层检测,以降低其他荧光团对 NADH 荧光检测的影响^[19]。

采用 Monte-Carlo 方法分别模拟光纤探头的结构参数,包括激发光纤与收集光纤近边缘距离 (D_1)、收集光纤的纤芯直径 (D_2)、数值孔径 (NA) 以及光纤与皮肤的距离 (D_3)。根据这些参数设计相应的光纤探头,以提高 NADH 荧光的收集效率。光纤探头的工作原理如图 2 所示。

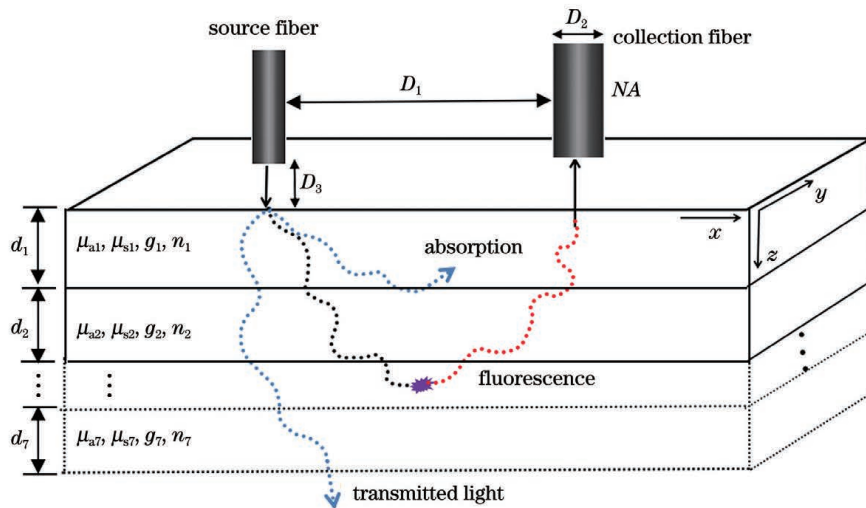


图 2 光纤探头-皮肤组织的光学模型

Fig. 2 Optical model of fiber-optics probe and skin tissue

3 结果与分析

3.1 Monte-Carlo 模拟光子在 7 层皮肤模型中的传播

NADH 荧光团主要位于人体表皮以下 $0.1\sim 0.2\text{ mm}$ 深度处,为了使激发光能够尽可能多地到达该层,使 NADH 荧光团产生荧光,需要对光子在 7 层皮肤中的传播情况进行模拟分析。以前臂皮肤为模拟的待测组织,整个模拟探测区域面积为 $4\text{ mm}\times 4\text{ mm}$,纵向深度 (z) 按照表 1 所述的特定厚度共分为 7 层。入射光源是半径为 0.1 mm 的平圆光束,入射光子数为 10^7 个。进行 Monte-Carlo 模

拟时,在径向 r 和轴向 z 方向上分别设置二维网格。 r 和 z 方向的网格元素总数为 N_r 和 N_z ,网格大小分别用 d_r 和 d_z 表示。检测距离 r 的取值范围为 $0\sim 0.4\text{ mm}$,每增加 0.001 mm 取一个 r 值,即 $d_r=0.001\text{ mm}$, $N_r=400$ 。 z 的取值范围为 $0\sim 4.7\text{ mm}$,每隔 0.001 mm 取一个 z 值,即 $d_z=0.001\text{ mm}$, $N_z=4700$ 。设置完各参数后,分别模拟径向距离 (r)、纵向深度 z 与光能流率 (F)、能流密度 $\Phi(z)$ 、光辐照度 (W) 之间的关系,结果如图 3 所示。

图 3(a)显示了模拟得到的光能流率 F 与半径 r 、纵向深度 z 之间的相关性。每个体素的颜色表示该体素被访问并最终被检测的概率,色条是对数刻

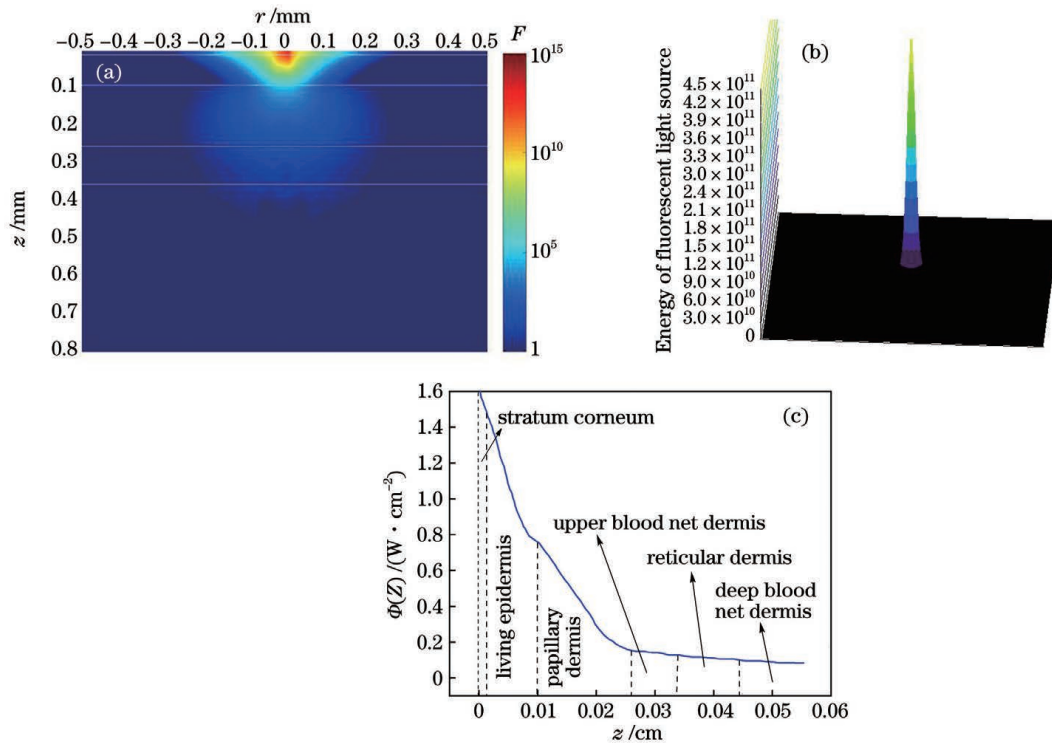


图 3 Monte-Carlo 模拟光子在 7 层皮肤组织中的传输结果。(a) 径向距离 r 、检测深度 z 与光能流率 F 之间的关系;

(b) 荧光光源的能量随径向距离 r 的变化;(c) 不同皮肤层的检测深度 z 与能流密度 $\Phi(z)$ 的关系

Fig. 3 Monte-Carlo simulated photons transmission in seven-layer skin model. (a) Relationship between the radial distance r , the detection depth z and the light energy flow rate F ; (b) changes energy of fluorescent light source with the radial distance r ; (c) relationship between the detection depth z and the energy flow density $\Phi(z)$ at different skin layers

度,能量强度范围为 $1 \sim 10^{15}$,水平线表示分层组织界面。分析图 3(a)可知,随着光在皮肤组织中传播的深度增加,能量流率急剧下降。在纵向深度 z 一定时,从图 3(b)中能直观地发现,随着径向距离 r 的增加,荧光光源的能量迅速下降。图 3(c)反映了能流密度 $\Phi(z)$ 在不同分层组织中的变化趋势,可见:随着检测深度 z 的增加,能流密度 $\Phi(z)$ 迅速下降;当 z 达到 0.26 mm 时,即在皮肤的上层血管网状真皮层(L4)中,所检测到的能流密度 $\Phi(z)$ 已不足 0.2 W/cm^2 。

由模拟结果可知,纵向深度 z 与径向距离 r 都会对荧光强度产生很大影响,当纵向深度 z 一定时,荧光强度会随着径向距离 r 的增大而逐渐减弱。因此,选择合适的检测距离对于 NADH 的荧光收集效率具有重要意义。

3.2 光纤探头特性参数的模拟与分析

光纤探头各项特性参数都会对荧光光谱探测产生不同程度的影响。为了提高光纤探头的探测效率,需要评估各特性参数对光纤探头探测的影响程度。基于光纤探头检测人体皮肤组织中 NADH 的荧光光谱的数学模型如图 2 所示。在初始状态下,

设定激发光纤和收集光纤的根数均为 1,激发光纤的纤芯直径为 0.01 cm,激发光纤与收集光纤的近边缘距离 D_1 为 0.01 cm,收集光纤的纤芯直径 D_2 为 0.06 cm,光纤探头与皮肤之间的距离 D_3 为 0,激发光纤和收集光纤的数值孔径 NA 均设为 0.22。模拟其中一个变量时,认为其他变量是固定不变的。分别改变 D_1 、 D_2 、 D_3 、 NA 的初始值,依次模拟激发光纤与收集光纤近边缘距离 D_1 、收集光纤直径 D_2 、光纤与皮肤距离 D_3 和收集光纤数值孔径 NA 对收集的荧光强度造成的影响,结果如图 4 所示。为了消除量纲和数量级对原始数据分析产生的影响,采用取对数的方法降低绝对数值,在程序中采用 mapminmax 归一化函数对数据进行归一化处理,数学公式为 $y = (y_{\max} - y_{\min})(x - x_{\min}) / (x_{\max} - x_{\min}) + y_{\min}$ 。经过函数处理后,荧光强度的原始数据转换为 $(0, 1)$ 之间的数值,从而得到相对荧光强度,这样就可以转化为概率分布进行分析。

由图 4 可以看出:随着激发光纤与收集光纤近边缘距离 D_1 从 0.01 cm 增加至 0.14 cm,荧光相对强度整体呈减弱的趋势,但在 0.05~0.09 cm 这一

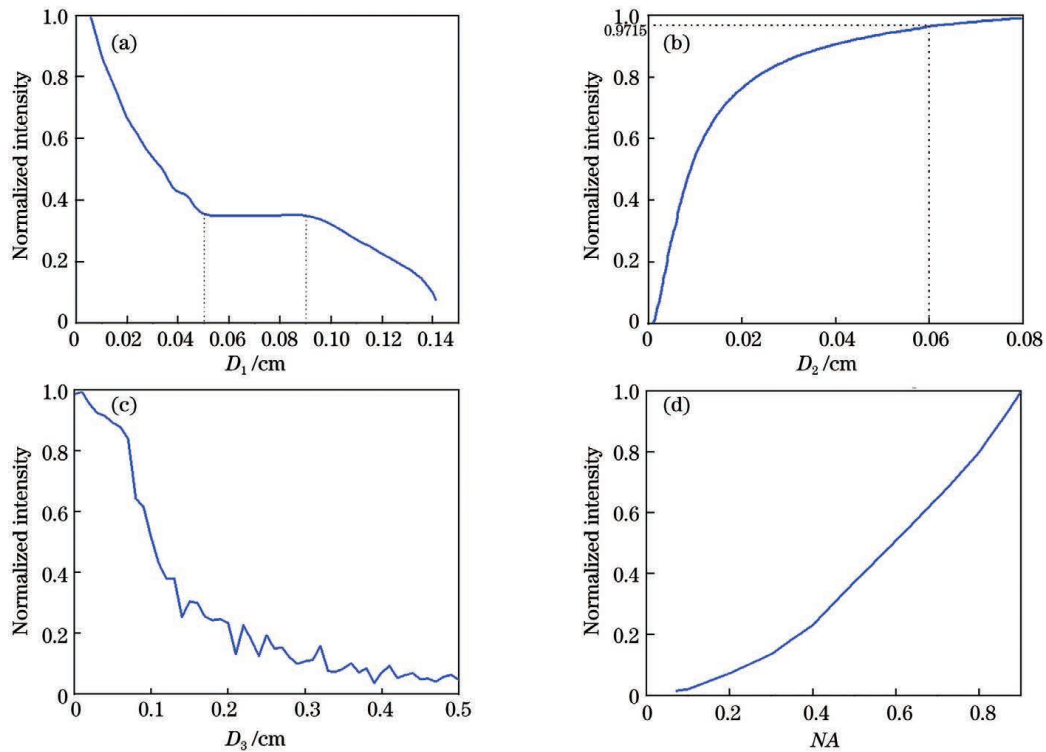


图 4 光纤探头结构参数对荧光强度影响的模拟结果。(a) 激发光纤与收集光纤近边缘距离 D_1 对荧光强度的影响；(b) 收集光纤纤芯直径 D_2 对荧光强度的影响；(c) 光纤探头与皮肤的距离 D_3 对荧光强度的影响；(d) 收集光纤数值孔径 NA 对荧光强度的影响

Fig. 4 Effects of structural parameters of fiber-optics probe on fluorescence intensity by simulation. (a) Effect of source-collection fiber-optics separation distance D_1 on fluorescence intensity; (b) effect of core diameter of collection fiber-optics D_2 on fluorescence intensity; (c) effect of distance between fiber-optics probe and skin on fluorescence intensity; (d) effect of numerical aperture of collection fiber-optics on fluorescence intensity

区段几乎保持不变；随着收集光纤纤芯直径 D_2 逐渐增大，其收集光信号的能力逐渐加强，当 D_2 达到 0.06 cm 时，荧光相对强度达到 0.9715。然而，收集光纤的纤芯直径越大，加工制造的难度也会越大，同时也会带来光路校正等问题。由图 4 还可以看出：光纤探头与皮肤之间的距离 D_3 越小，光纤收集荧光信号的能力越强，在 D_3 为 0.02 cm 时荧光信号的强度达到极值。随着 D_3 逐渐增大，收集的荧光相对强度整体上呈减弱的趋势，这说明光纤探头的几何结构对荧光信号收集的影响逐渐增大。收集光纤的数值孔径 NA 越大，其收集荧光的能力越强，这与“光纤收集光的能力与数值孔径 NA 成正比相关”理论一致^[20]。然而，考虑到实际的光纤制作情况，一般可选择数值孔径为 0.2 ± 0.02 。

Monte-Carlo 模拟结果表明，光纤探头的特性参数会对荧光信号的检测产生不同程度的影响，选择合适的特性参数可使荧光光谱的收集效率更高。

3.3 光纤探头设计

基于图 3 与图 4 所示的 Monte-Carlo 模拟结

果，并考虑到光纤探头的实际加工工艺、光路校正等诸多因素，设计了如图 5 所示的光纤探头，其中激发光纤与收集光纤的近边缘距离 $D_1 = 50 \mu\text{m}$ ，收集光纤的纤芯直径 $D_2 = 600 \mu\text{m}$ ，收集光纤的数值孔径为 0.22。考虑到仪器在实际使用时收集光纤探头与皮肤之间的距离很难控制在 0.02 cm 左右，可将光纤探头与皮肤完全接触，这样可以避免在检测过程中对光纤探头距离的调节，同时荧光强度也接近极值。

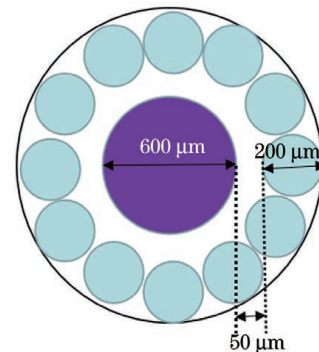
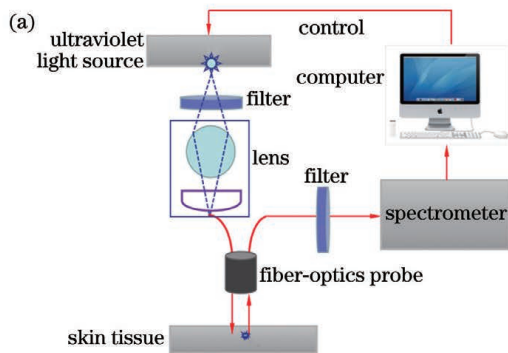


图 5 光纤探头设计图

Fig. 5 Design of fiber-optics probe

4 实验与讨论

采用设计好的光纤探头进行 NADH 荧光光谱检测。整个荧光光谱检测系统如图 6(a) 所示。激发光源采用中心波长约为 340 nm 的紫外 LED 灯, 用以激发人体手臂皮肤组织中的 NADH 荧光物质产生荧光。激发光源发出的光经滤光片滤掉一部分杂散光后再经耦合透镜组进入石英光纤中进行传输。荧光团产生的激发光经光纤探头收集后经由光纤传输, 为了避免较强的激发光导致 CCD 探测器饱



和溢出, 在光的传输路径上设置了一个滤光片(滤除激发光); 经由滤光片的荧光信号传输至光谱仪, 最后输入至计算机进行数据处理。其中, 光谱仪采用的是微型光栅光谱仪, 光谱分辨率为 1.6 nm, 可检测波段为 300~720 nm。软件部分是基于 LabVIEW 程序开发环境, 采用图形化编程语言编写的用于皮肤 NADH 荧光测量的控制分析软件。整个系统能够实现对人体手臂皮肤组织中 NADH 荧光团的激发以及荧光信号的收集, 并可对缺血和阻断反应性充血过程中荧光光谱的动态变化进行分析处理。

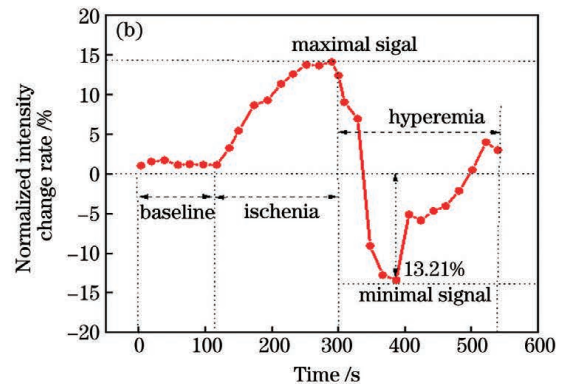


图 6 荧光光谱检测系统装置图及所得实验结果。(a) 实验装置图; (b) 实验测得的 NADH 荧光强度的变化率

Fig. 6 Experimental setup of fluorescence spectrum detection system and experimental result. (a) Experimental setup; (b) fluorescence intensity change rate of NADH detected in experiment

在确定整个检测仪器稳定的情况下, 选取一名健康志愿者(26 岁, 男性)进行 NADH 荧光光谱测量。为了尽量减小外界因素对测量结果的影响, 受试者在 12 h 内不得进行剧烈运动, 在 2 h 测试过程中禁食, 并且整个测试在室温下进行。测量前, 受试者在座位上安静休息 20 min, 然后开始测量。在 0~120 s 时间内, 不对检测者施加任何袖带压力, 可以看到 NADH 荧光相对强度呈现动态稳定状态; 在 120~300 s 时间内, 对其施加压力(收缩压 +50 mmHg, 约为 7.3 kPa), 并连续监测 NADH 荧光光谱, 结果如图 6(b) 所示。在组织皮肤处于缺血阶段, NADH 荧光相对强度逐渐升高, 并逐渐接近极值, 此时 NADH 荧光相对强度变化率达到 13% 左右, 这可能与缺血引起的氧化磷酸化降低有关^[21]。当阻塞在 300 s 释放后, 皮肤组织处于充血阶段, 并迅速恢复到正常水平, 同时, NADH 荧光相对强度在此阶段迅速下降, 随后恢复到正常的稳定水平。

5 结 论

本课题组构造了 7 层皮肤组织结构, 进行了组

织光学参数的计算, 并运用 Monte-Carlo 方法模拟了光在分层组织中的传播过程, 得到了纵向深度 z 、径向距离 r 与光能流率 F 之间的关系, 为探测人体皮肤内 NADH 的荧光光谱提供了理论依据。此外, 通过模拟研究了光纤探头的结构参数对荧光光谱检测的影响, 并根据模拟结果设计了光纤探头, 搭建了荧光光谱检测系统。实验结果表明, 该系统能够有效监测皮肤内 NADH 的动态变化, 这将有助于心血管疾病、糖尿病等相关疾病的无创早期诊断和监测, 同时该方法也可推广到皮肤中其他荧光物质的在体测量。

参 考 文 献

- [1] Schönleitner P, Schotten U, Antoons G. Mechanosensitivity of microdomain calcium signalling in the heart[J]. Progress in Biophysics and Molecular Biology, 2017, 130: 288-301.
- [2] Zhang R L, Li H, Wu Y H, et al. Identification of human coronary atherosclerotic plaques using spectrum- and time-resolved multiphoton microscopy [J]. Chinese Journal of Lasers, 2020, 47(2): 0207025.
张荣丽, 李慧, 吴岳恒, 等. 利用光谱和时间分辨的

- 多光子显微技术识别人体冠状动脉粥样硬化斑块[J]. 中国激光, 2020, 47(2): 0207025.
- [3] Drozdowicz-Tomsia K, Anwer A G, Cahill M A, et al. Multiphoton fluorescence lifetime imaging microscopy reveals free-to-bound NADH ratio changes associated with metabolic inhibition[J]. Journal of Biomedical Optics, 2014, 19(8): 086016.
- [4] Balu M, Mazhar A, Hayakawa C K, et al. *In vivo* multiphoton NADH fluorescence reveals depth-dependent keratinocyte metabolism in human skin[J]. Biophysical Journal, 2013, 104(1): 258-267.
- [5] Lin Y T, Xu J S, Xie S S, et al. Research progress on fluorescence imaging and spectral analysis for liver fibrosis [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2020, 57(1): 010002.
林雅婷, 许建树, 谢树森, 等. 肝纤维化荧光成像及光谱分析研究进展[J]. 激光与光电子学进展, 2020, 57(1): 010002.
- [6] Tarnawska M, Dorniak K, Kaszubowski M, et al. A pilot study with flow mediated skin fluorescence: a novel device to assess microvascular endothelial function in coronary artery disease[J]. Cardiology Journal, 2018, 25(1): 120-127.
- [7] Piotrowski L, Urbaniak M, Jedrzejczak B, et al. Note: flow mediated skin fluorescence: a novel technique for evaluation of cutaneous microcirculation [J]. The Review of Scientific Instruments, 2016, 87(3): 036111.
- [8] Hellmann M, Tarnawska M, Dudziak M, et al. Reproducibility of flow mediated skin fluorescence to assess microvascular function[J]. Microvascular Research, 2017, 113: 60-64.
- [9] Wilson R H, Mycek M A. Models of light propagation in human tissue applied to cancer diagnostics [J]. Technology in Cancer Research & Treatment, 2011, 10(2): 121-134.
- [10] Tseng S H, Bargo P, Durkin A, et al. Chromophore concentrations, absorption and scattering properties of human skin *in-vivo* [J]. Optics Express, 2009, 17(17): 14599-14617.
- [11] Hielscher A H, Liu H, Chance B, et al. Time-resolved photon emission from layered turbid media [J]. Applied Optics, 1996, 35(4): 719-728.
- [12] Meglinski I V, Matcher S J. Quantitative assessment of skin layers absorption and skin reflectance spectra simulation in the visible and near-infrared spectral regions [J]. Physiological Measurement, 2002, 23(4): 741-753.
- [13] Wang J G, Wang G Y, Xu Z Z. Monte-Carlo simulations for light propagation in striated scattering medium [J]. Acta Optica Sinica, 2000, 20(3): 346-350.
王建岗, 王桂英, 徐至展. 光在分层散射介质中传输行为的蒙特卡罗模拟研究 [J]. 光学学报, 2000, 20(3): 346-350.
- [14] Wang L H, Jacques S L, Zheng L Q. MCML: Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues [J]. Computer Methods and Programs in Biomedicine, 1995, 47(2): 131-146.
- [15] Nizinski J, Kamieniarz L, Filberek P, et al. Monitoring the skin NADH changes during ischaemia and reperfusion in humans [J]. Journal of Medical Science, 2020, 89(1): e405.
- [16] Dunaev A V, Dremin V V, Zherebtsov E A, et al. Individual variability analysis of fluorescence parameters measured in skin with different levels of nutritive blood flow [J]. Medical Engineering & Physics, 2015, 37(6): 574-583.
- [17] Zhou Y Y, Xiao Y C, Sun L J, et al. Optical-fiber fluorescent probes [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2020, 57(1): 010003.
周艳焰, 肖永川, 孙力军, 等. 光纤荧光探针 [J]. 激光与光电子学进展, 2020, 57(1): 010003.
- [18] Bachmann L, Zezell D M, Ribeiro A D C, et al. Fluorescence spectroscopy of biological tissues: a review [J]. Applied Spectroscopy Reviews, 2006, 41(6): 575-590.
- [19] Wang Y K, Zhang L, Zhu L, et al. Fiber-optic probe design for detecting skin fluorescence [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2011, 48(9): 093003.
王贻坤, 张龙, 朱灵, 等. 用于皮肤荧光光谱检测的光纤探头设计 [J]. 激光与光电子学进展, 2011, 48(9): 093003.
- [20] Pfefer T J, Matchette L S, Ross A M, et al. Selective detection of fluorophore layers in turbid media: the role of fiber-optic probe design [J]. Optics Letters, 2003, 28(2): 120-122.
- [21] Bogaczewicz J, Tokarska K, Wozniacka A. Changes of NADH fluorescence from the skin of patients with systemic lupus erythematosus [J]. BioMed Research International, 2019, 2019: 5897487.