

文章编号: 0253-2239(2004)07-873-4

渗透剂对小鼠皮肤光学特性影响的实时动态监测*

岑 建 朱 □** 骆清铭** 曾绍群

(华中科技大学生物医学光子学教育部重点实验室, 武汉 430074)

摘要: 自行研制了一套双积分球系统,应用该系统对离体小鼠皮肤在渗透剂无水甘油作用下,光学特性参量的变化进行了实时监测。实验结果表明:在无水甘油作用下,随着时间的延长,小鼠皮肤的约化散射系数明显减小,吸收系数略有增加,并最终导致了有效衰减系数的减小;但当作用时间超过 25 min 后,样品的光学特性参量会趋于恒定。为生物组织光学特性控制作用提供了新的方法,这对组织光学成像研究是非常重要的。

关键词: 生物光学; 双积分球技术; 组织光学特性; 无水甘油; 生物组织光学特性控制

中图分类号: R318.51 文献标识码: A

Monitoring Osmotical Agents Induced the Change in Optical Properties of Mouse Skin

Cen Jian Zhu Dan Luo Qingming Zeng Shaoqun

(The Key Laboratory of Biomedical Photonics of Ministry of Education,
Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074)

(Received 18 November 2002; revised 3 February 2004)

Abstract: A double integrating sphere system was developed to investigate the effect of the osmotic agent of glycerol on the optical properties change of mouse skin. The results showed that the reduced scattering coefficient of mouse skin reduced, and the absorption coefficient increased when rate skin was immersed during the initial 25 min, and then the optical properties of rat skin approached to constants. The changes in absorption and scattering parameters resulted in reduce of the effective attenuation coefficient. This study provides a new method to investigate the control of optical properties of tissu. It is important for optical imaging of tissue.

Key words: biological optics; double integrating sphere; optical properties of tissue; osmotic aents; controlling of optical properties of tissue

1 引 言

近年来, Tuchin^[1,2]提出了生物组织光学特性控制技术,将渗透剂作用于生物组织后,通过改变组织中的折射率不匹配,显著改善光在生物组织中的穿透能力,该技术的出现给光学成像技术带来了新的契机。这项技术用于光学成像中,可以在不改变组织的生理构成和器官功能的同时,减弱成像目标组织的混

浊背景,增加成像深度,并可提高图像的衬比度^[1~3]。

组织光学特性参量用来表述组织的光学性质,是组织结构和生理生化参量的光学表征^[4]。生物组织的光学特性常用吸收系数 μ_a , 散射系数 μ_s 及各向异性因子 g 来表征,这里 μ_a (mm^{-1}) 和 μ_s (mm^{-1}) 的倒数分别表示光子在介质中被吸收或散射前所走过的平均距离, g 是光子在不同方向上的散射几率。当光通量的空间分布变化不是很大时,或在远离边界及光源的区域,散射各向异性的细节并不重要,也常将 μ_s 和 g 简化成单一的散射系数,即约化散射系数 $\mu'_s = \mu_s(1-g)$ 。另外,光穿透生物组织的能力可以用有效衰减系数 μ_{eff} (mm^{-1}) 来表示,它是有效注入深度 δ (mm) 的倒数:

* 国家自然科学基金(59836240)重点项目、国家杰出青年科学基金(60025514)、中国博士后科学基金(2002031256)资助课题。

** 通信联系人。E-mail: dawnzh@mail.hust.edu.cn

收稿日期:2002-11-18;收到修改稿日期:2004-02-03

$$\mu_{\text{eff}} = 1/\delta = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}$$

有效注入深度 δ (mm) 表示光通量减小到 $1/e$ 时光子传播的深度。

研究渗透剂对生物组织的作用过程,大多用摄像机拍照^[3,5]、或者采用光谱仪^[3,5],或者结合单积分球对生物组织的反射光强和透射光强进行连续的监测^[6],以此来反映组织光学特性改变的情况。这些方法各有弊端,或者只能得到定性的结果^[3,5,6],或者只能给出反射特性的变化^[5,7],或者不能对整个过程的光学特性参量进行实时监测^[3,5,7]。

为此,我们采用自行研制的双积分球系统对渗透剂无水甘油作用下,离体小鼠皮肤光学特性参量的变化进行了实时监测。在测量小鼠皮肤对光的反射和透射随时间的变化的基础上,进而得到动态的吸收系数、约化散射系数及有效衰减系数,并将所得结果与对照组(即离体皮肤样品在生理盐水作用下)的情况进行了比较。

2 材料与方法

2.1 实验系统

双积分球系统是将双积分球的测量技术与辐射传输理论的精确解结合起来实现的(如图1)。样品放在两个积分球之间,通过对样品的一次测量即可同时获取其对入射光的总的反射率、漫透射率及准直透射率;再根据生物组织中特定的光子传输理论,用双层叠加反演算法(Inverse adding doubling, IAD)方法^[8]即可求出组织光学特性参量^[8~13]。双积分球技术的最大优点还在于它能够对组织样品光学参量变化过程进行实时监测。

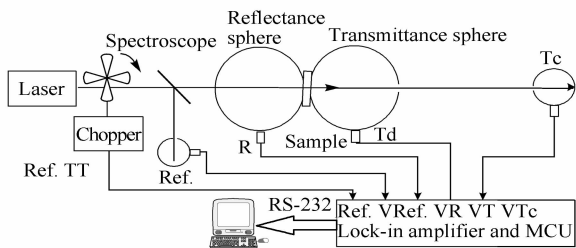


Fig. 1 Double-integrating-sphere system block

该系统所用光源为 He-Ne 激光器(上海激光技术研究所),波长 632.8 nm,功率 1.6 mW,我们曾在文献^[10,11]中对双积分球系统的测量原理及获取光学参量的方法进行了较为详细的介绍。

该双积分球系统与其它同类系统相比的主要改进在:1)参考球的应用消除了光源波动给测量带来

的影响^[10~12];2)在系统软件的设计中,融合了 IAD 算法,这样在获得每个测量值后,可以立即通过调用 IAD 算法获取样品的光学特性参量^[10];3)信号提取和采集由单片机系统完成,计算机不用参与,使得计算机有足够的时间进行运算^[10]。

2.2 实验动物

8 周龄大的昆明小鼠,体重约 20 g,共 5 只。

2.3 实验药品及溶液

所用的渗透剂为无水甘油(分析纯,分子量:92.09,上海化学试剂有限公司生产)。这是因为无水甘油折射率为 1.47,约等于皮肤中胶原纤维的折射率,可以减弱生物组织的散射特性^[3,6]。国外学者做过类似的研究,有确定的结果,实验结果具有可比性,能够验证我们提出的研究方法。

NaCl(分析纯,分子量:58.44,武汉天运盐化产品开发有限公司生产)。

2.4 实验方法

将昆明小鼠用 20% 乌拉坦按 0.8 ml/100 g 腹腔注射麻醉后,用脱毛剂(8 g 硫化钠溶于 100 mL 水)脱去小鼠背部鼠毛,清水冲洗干净。用手术刀剥下小鼠背部皮肤,除去皮下的脂肪和肌肉层。每块小鼠皮肤切成 40 mm × 40 mm 的方块,并测量小鼠皮肤厚度。将小鼠皮肤立即放入样品盒中,样品盒由两块玻璃片(50 mm × 50 mm)构成,四周用玻璃胶密封。样品盒内注入生理盐水(对照组)或者无水甘油,使试剂能够作用于小鼠皮肤表面。在这两种情况下,通过双积分球系统对小鼠皮肤总的反射率、透射率以及光学特性参量进行实时监测。监测时间为 30 min,约隔 2 s 获取一组测量值。

3 结 果

3.1 小鼠皮肤总的反射和透射光强的变化

在无水甘油和生理盐水作用下,利用双积分球系统对小鼠皮肤反射光和透射光进行了实时监测。图 2 分别给出了小鼠皮肤样品在无水甘油和生理盐水(对照组)作用过程中反射率和透射率的典型变化曲线(小鼠皮肤厚度:无水甘油作用 0.96 mm,生理盐水作用 0.98 mm)。

在无水甘油作用于小鼠皮肤的 10 min, 20 min, 30 min, 其反射率分别比初始值减小了 13.0%, 22.8%, 31.5%; 透射率分别比初始值增加了 11.5%, 19.1%, 24.6%。肉眼可观察到,小鼠皮肤随时间变得愈加透明。

对照组,在生理盐水作用下小鼠皮肤的反射率、透射率及光学参量在此时间内保持一个稳定的数值。

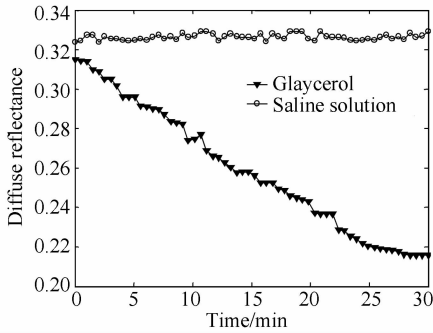
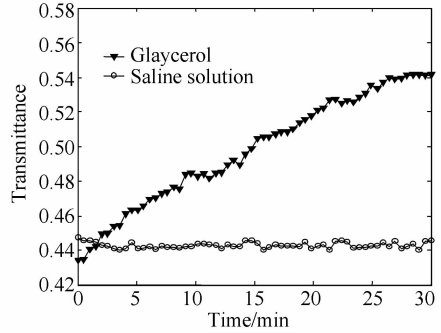


Fig. 2 Reflectance and transmittance of in-vitro rat skin in 30 min

在30 min内反射率的波动仅为0.5%,透射率波动仅为0.4%。肉眼无法观测到小鼠皮肤的任何变化。



3.2 小鼠皮肤光学特性参量的变化

在无水甘油或生理盐水的作用下,利用双积分球系统对小鼠皮肤进行实时监测,同时获取了小鼠

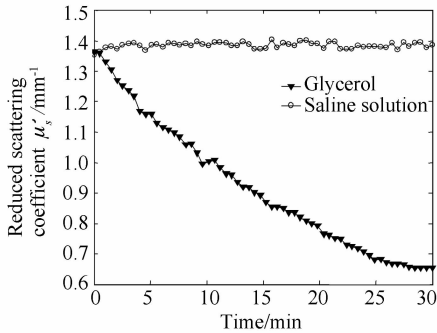
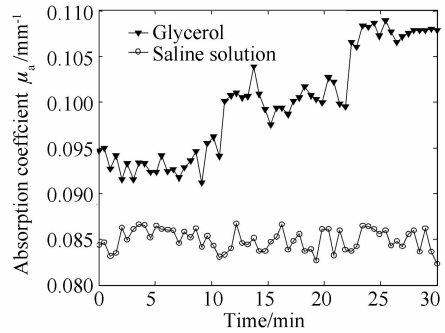


Fig. 3 Reflectance and transmittance of in-vitro rat skin in 30 min

皮肤光学特性参量随时间的变化曲线。图3分别给出了小鼠皮肤样品在无水甘油和生理盐水作用过程中约化散射系数和吸收系数的变化曲线。



在无水甘油作用于小鼠皮肤的10 min,20 min,30 min,约化散射系数分别比初始值减小了26.9%,41.8%,52.9%;吸收系数分别比初始值增加了0.8%,5.6%,13.8%;从曲线可以看出,第25 min以后,小鼠皮肤光学特性变化趋于平缓。比较而言,30 min内,生理盐水作用下的小鼠皮肤的约化散射系数波动仅为7.3%,吸收系数波动仅为1.4%。

另外,光穿透生物组织的能力可以用有效衰减系数 μ_{eff} (mm^{-1}) 来表示。根据先前得到的吸收系数、约化散射系数曲线,利用公式 $\mu_{\text{eff}} = 1/\delta = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}$ 可以得到小鼠皮肤有效衰减系数的变化曲线。图4分别给出了无水甘油和生理盐水作用下小鼠皮肤有效衰减系数的变化曲线。

由图4可知,无水甘油作用下小鼠皮肤的有效衰减系数随作用时间延长而明显减小,在无水甘油作用于小鼠皮肤的10 min,20 min,30 min,有效衰减系数减小了13.3%,19.5%,22.8%。比较而言,生理盐水作用下小鼠皮肤有效衰减系数无明显变化,整个时间段上波动仅为0.91%。

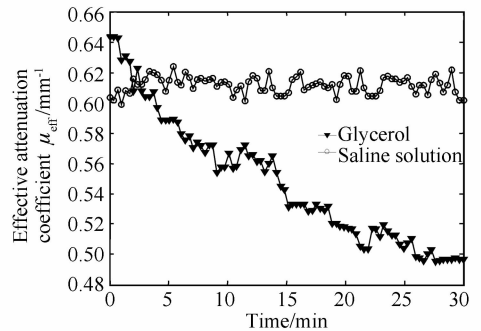


Fig. 4 Effective attenuation coefficient of in-vitro rat skin in 30 min

3.3 渗透剂作用的可逆性实验

实验结束后,将用无水甘油作用过的小鼠皮肤浸泡于生理盐水中,经过20 min,小鼠皮肤又回复到实验前的混浊状态,再次测量得到小鼠皮肤的光学特性参量恢复到实验之前的水平:吸收系数为 0.096 mm^{-1} (实验前后相差1.5%),约化散射系数为 1.34 mm^{-1} (实验前后相差1.7%)。实验证明用该方法改变小鼠皮肤的光学特性是可逆的。

4 讨 论

本实验应用双积分球系统对无水甘油(生理盐水作为对照组)作用于小鼠皮肤的过程进行了实时监测。实验结果表明:无水甘油作用下,小鼠皮肤的反射率随作用时间延长而减小,透射率随作用时间而增大,约化散射系数随作用时间延长而减小,吸收系数随作用时间有一定增加,有效衰减系数随作用时间而减小,25 min之后光学特性参量趋于恒定,而对照组小鼠皮肤的光学特性参量保持一稳定的数值。而且实验证明无水甘油对小鼠皮肤光学特性的作用是完全可逆的。在 Vargas^[3], Bashkatov 等^[6]的实验中测得的离体小鼠皮肤的光学特性参量在无水甘油作用下的变化趋势结果,以及20 min左右以后达到稳定值,与我们的实验结果是一致的。

小鼠皮肤对可见光和近红外光呈现出半透明、混浊的特点。这个特点是因为生物组织自身的结构造成了光在组织中的低吸收、高散射。对于生物组织,散射的引起主要由散射物与背景物质的折射率不匹配造成^[1~4],也就是说,皮肤组织表现在组织间质与胶原纤维之间的折射率不匹配。折射率愈不匹配,散射系数愈大,组织愈显出模糊不可视等特点。实验中所采用的无水甘油折射率为 1.47,约等于皮肤中胶原纤维的折射率^[3,6]。无水甘油进入生物组织后,会部分替代先前的组织间质,使得原先组织间质与胶原纤维之间的折射率不匹配状态发生改变,从而很大程度上影响了组织的透射、反射,以及散射光的偏振和相干特性。以无水甘油作为渗透剂作用于生物组织,如小鼠皮肤,可以有效地降低散射,增加对光的穿透深度^[3,5,6]。

本研究表明,采用自行研制的双积分球系统监测生物组织光学特性参量的动态变化过程,是一种有效的研究手段。其优势在于:通过一次测量能够获得一组有关组织光学特性的参量,包括反射率、透射率以及吸收系数、散射系数等;通过对变化样品连续的测量,即可了解生物组织光学特性变化的全过程;测量结果直观性强,对反射率、透射率及光学特性参量都能够定量给出结果,直接描绘其变化曲线。该方法将有助于对渗透剂与生物组织相互作用的进

一步研究。对渗透剂与生物组织作用过程的定量监测,将深化生物组织光学特性控制技术的研究,对组织光学成像具有重要意义。

参 考 文 献

- 1 Tuchin V V, Maksimova I L, Zimnyakov D A *et al.*. Light propagation in tissues with controlled optical properties. *J. Biomed. Opt.*, 1997, **2**(4):401~417
- 2 Tuchin V V. Tissue image contrasting using optical immersion technique. *Proc. SPIE*, 2000, **4224**:351~365
- 3 Vargas G, Chan E K, Barton J K *et al.*. Use of an agent to reduce scattering in skin. *Lasers Surg. Med.*, 1999, **24**(2): 133~141
- 4 Tuchin V V. Tissue Optics; Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis. *SPIE Tutorial Texts in Optical Engineering*, 2000, TT38
- 5 Yao Lei, Cheng Haiying, Luo Qingming *et al.*. Control of rabbit dura mater optical properties with osmotic liquids. *Proc. SPIE*, 2002, **4536**:147~152
- 6 Bashkatov Alexey N, Genina Elina A, Korovina Irina V *et al.*. *In vivo* and *in vitro* study of control of rat skin optical properties by acting of osmotic liquid. *Proc. SPIE*, 2000, **4224**: 300~311
- 7 Li Hui, Xie Shusen, Lu Zukang *et al.*. A new model of light scattering in biological tissue for visible and near infrared Region. *Acta Optica Sinica* (光学学报), 1999, **19**(12): 1661~1666 (in Chinese)
- 8 Pahl S S, Van Gemert M J C, Welch A J. Determining the properties of turbid media by using the adding-doubling method. *Appl. Opt.*, 1993, **32**(4): 559~568
- 9 Pickering J W, Pahl S A, van Wieringen N *et al.*. Double-integrating-sphere system for measuring the optical properties of tissue. *Appl. Opt.*, 1993, **32**(4): 399~410
- 10 Cen Jian, Luo Qingming, Zhu Dan *et al.*. A double-integrating-sphere system for measuring the optical properties of tissue based on single-chip microcomputer. *Chin. J. Scientific Instrument* (仪器仪表学报), 2004, **25**(2): 187~190 (in Chinese)
- 11 Zhu Dan, Luo Qingming, Zeng Shaoqun *et al.*. Modified double-integrating-sphere system for measuring the optical properties of tissue. *Acta Photonica Sinica* (光子学报), 2001, **30**(10): 1175~1181 (in Chinese)
- 12 Zhu Dan, Luo Qingming, Zeng Shaoqun *et al.*. Changes in the optical properties of slowly heated human whole blood and albumen. *Acta Optica Sinica* (光学学报), 2002, **22**(3): 369~373 (in Chinese)
- 13 Gong Hui, Luo Qingming, Zeng Shaoqun *et al.*. Measuring methods for optical properties of tissue and application in medicine. *Acta Laser Biology Sinica* (激光生物学报), 1999, **8**(1):12~15 (in Chinese)