

# 基于太赫兹时域光谱系统的脑缺血检测

王与焯<sup>1,2</sup>, 孙忠成<sup>1,2</sup>, 徐德刚<sup>1,2\*</sup>, 姜智南<sup>1,2</sup>, 穆宁<sup>3</sup>, 杨川燕<sup>3</sup>, 陈图南<sup>3</sup>, 冯华<sup>3</sup>, 姚建铨<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>天津大学精密仪器与光电子工程学院, 天津 300072;

<sup>2</sup>天津大学光电信息技术教育部重点实验室, 天津 300072;

<sup>3</sup>陆军军医大学西南医院神经外科, 重庆 400038

**摘要** 脑缺血是神经外科的常见疾病之一,目前急需一种快速、准确的脑缺血检测方法。利用透射式太赫兹时域光谱技术对脑缺血组织进行检测,为减小个体差异的影响,通过计算左脑与右脑的太赫兹吸收系数的相对差异研究脑组织的缺血程度。实验发现,随着缺血时间的增加,新鲜组织的左右脑吸收系数的相对差异先变大后减小,主要原因是缺血区域的水含量升高和细胞密度下降;而石蜡包埋的脑缺血组织的左右脑吸收系数的相对差异逐渐减小,主要原因是缺血区域的细胞密度逐渐下降。结果表明,利用太赫兹时域光谱系统可以实现最早缺血2 h的脑缺血组织的检测,为脑缺血的早期无标记快速诊断提供了有效的技术手段。

**关键词** 太赫兹时域光谱系统; 脑缺血; 吸收系数; 相对差异; 新鲜组织; 石蜡包埋组织

中图分类号 O433.4

文献标志码 A

doi: 10.3788/AOS202040.0430001

## Detection of Cerebral Ischemia Based on Terahertz Time-Domain Spectroscopy

Wang Yuye<sup>1,2</sup>, Sun Zhongcheng<sup>1,2</sup>, Xu Degang<sup>1,2\*</sup>, Jiang Zhinan<sup>1,2</sup>, Mu Ning<sup>3</sup>,  
Yang Chuanyan<sup>3</sup>, Chen Tunan<sup>3</sup>, Feng Hua<sup>3</sup>, Yao Jianquan<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>School of Precision Instruments and Optoelectronics Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

<sup>2</sup>Key Laboratory of Optoelectronics Information Technology (Ministry of Education), Tianjin University, Tianjin 300072, China;

<sup>3</sup>Department of Neurosurgery, Southwest Hospital, Army Medical University, Chongqing 400038, China

**Abstract** Cerebral ischemia is one of the common diseases in neurosurgery, and a rapid and accurate method for cerebral ischemia detection is urgently needed. Transmissive terahertz time-domain spectroscopy is applied to detect cerebral ischemic tissue. In order to reduce the impact of individual differences, the degree of ischemia of brain tissue is studied by calculating the relative difference of the terahertz absorption coefficients between left and right brains. It is found that with the increase of ischemia time, the relative difference of absorption coefficient between left and right brains of fresh tissue first increases and then decreases, which is mainly caused by the increase of water content and the decrease of cell density in the ischemic area; meanwhile, the relative difference of absorption coefficient between left and right brains of paraffin-embedded cerebral ischemic tissue gradually decreases, which is mainly due to the gradual decrease of cell density in the ischemic region. The results show that the terahertz time-domain spectroscopy system can be used to detect the earliest 2 h cerebral ischemia, which provides an effective technical means for the early label free rapid diagnosis of cerebral ischemia.

**Key words** terahertz time-domain spectroscopy; cerebral ischemia; absorption coefficient; relative difference; fresh tissue; paraffin-embedded tissue

**OCIS codes** 300.6495; 040.2235; 070.4790; 170.6510

收稿日期: 2019-10-14; 修回日期: 2019-10-25; 录用日期: 2019-11-06

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(2015CB755403)、国家自然科学基金(61775160, 61771332)、中国博士后科学基金(2016M602954)

\* E-mail: xudegang@tju.edu.cn

# 1 引 言

脑缺血是神经外科中常见的疾病之一,突发性强,致死、致残率高<sup>[1]</sup>,发病机理主要有脑动脉病变和体循环障碍两种。脑缺血会导致病人意识模糊,长时间的脑缺血甚至会导致脑组织功能的永久损伤<sup>[2]</sup>,但医生在术中很难凭借肉眼鉴别脑缺血组织及其边界。核磁共振成像(MRI)<sup>[3-4]</sup>和计算机断层扫描成像(CT)<sup>[5]</sup>等技术可用于术前的脑缺血检测和缺血程度分析,但都存在一定的缺陷,如设备操作复杂、成本高及时间长。2013年,Kidwell等<sup>[6]</sup>通过核磁共振和计算机断层扫描数据的多参数融合检测早期脑缺血,但检测的准确度和灵敏度还有待提高。目前,脑缺血的术中检测主要是通过局部脑血流和脑电活动的监测实现的,具体包括热扩散系数、激光多普勒血流计、微血管多普勒超声和血红蛋白饱和度的近红外监测,这些方法时间和空间分辨率较低、准确度低、生物机制不明确。因此迫切需要研究一种快速、准确、经济、对生物体无害的脑缺血检测方法。

太赫兹波介于微波与红外之间,光子能量低,对水分子等极性分子较为敏感且对生物大分子具有指纹谱特性<sup>[7-9]</sup>,广泛应用于生物组织的无损检测中<sup>[10]</sup>。透射式太赫兹时域光谱技术通过检测太赫兹波穿过样品时振幅和相位的变化,计算出样品的折射率、吸收系数等参数,是检测生物组织病变的有效方法<sup>[11]</sup>。2014年,李钊<sup>[12]</sup>使用透射式太赫兹时域光谱系统对4个缺血时间点的新鲜大鼠脑组织进行检测,通过计算吸收系数曲线中波峰与波谷的差值(Peak-Valley difference, PVD)实现了对缺血3 h以上的脑缺血组织的检测。他认为脑缺血导致组织中水含量、细胞密度和血氧含量的变化是使太赫兹吸收特性发生变化的原因,但透射式太赫兹时域光谱在对薄样品检测时会产生干涉效应,表现为吸收系数曲线的振荡,因此采用吸收系数曲线的PVD值进行分析的合理性有待商榷。2016年,张章等<sup>[13]</sup>使用透射式太赫兹时域光谱系统对6个缺血时间点的新鲜大鼠脑组织进行检测并计算其吸收系数。发现随缺血时间的增加,脑缺血组织对太赫兹波的吸收先升高,在缺血6 h时达到最大值后降低然后再升高。他认为这种现象是脑组织缺血导致氨基酸、乳酸及一氧化氮酶等代谢产物的含量发生变化引起的,但忽略了脑组织缺血时水含量和细胞密度发生的巨大变化。以上两个研究都是对新鲜脑组织进行

检测,将不同缺血时间点的样品与对照组进行对比,忽略了大鼠间的个体差异。

本文利用透射式太赫兹时域光谱系统对5个缺血时间点的新鲜和石蜡包埋大鼠脑组织分别进行检测,通过计算同一个样品左脑(缺血区域)和右脑(健康区域)的太赫兹吸收系数的相对差异 $\Delta\alpha$ 来衡量脑组织的缺血程度,减小了个体差异的影响。实验结果表明,新鲜脑缺血组织的 $\Delta\alpha$ 随着缺血时间的增加呈现出先增大后减小的趋势,这可能是缺血区域水含量升高和细胞密度降低共同作用导致的;石蜡包埋脑缺血组织的 $\Delta\alpha$ 随缺血时间的增加而减小,主要是由缺血区域的细胞密度降低引起的。基于太赫兹时域光谱技术可以实现最早缺血2 h的脑缺血组织的检测。

## 2 实验装置与样品制备

### 2.1 透射式太赫兹时域光谱系统

本实验采用日本Advantest公司生产的TAS7500型太赫兹时域光谱仪,使用光电导天线作为太赫兹源和探测器,可用的频率范围为0~5 THz,频率的分辨率最低可达3.8 GHz,在透射式测量模式下动态范围约为70 dB,外部光路示意图如图1所示。太赫兹波由光电导天线发射并经一个抛物面金镜( $f=50.8$  mm)准直,然后被另一个抛物面金镜( $f=101.6$  mm)聚焦到样品待测区域,焦点处的光斑直径约为2 mm。太赫兹波在穿过样品后先由一个抛物面金镜( $f=101.6$  mm)准直,之后被另一个抛物面金镜( $f=50.8$  mm)聚焦到接收端的光电导天线。电脑接收信号后通过自带软件计算出样品的折射率、吸收系数及介电常数等参数。为了减小空气中水蒸气的干扰,实验过程中采用密封罩将光路封闭并向其中充入干燥空气,使光路的相对湿度保持在3%以下。太赫兹波在经过材料的吸收后,信噪比会下降,实验测量中将频率范围固定在0.4~1.4 THz。

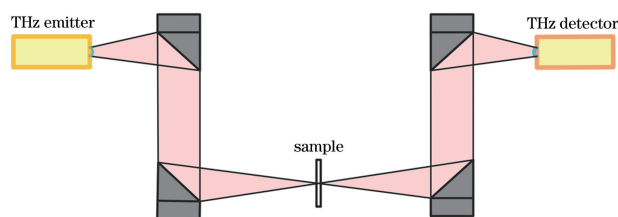


图1 透射式太赫兹时域光谱系统光路示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the transmissive terahertz time-domain spectroscopy system

## 2.2 脑缺血动物模型制备及实验样品制备

选取 60 只健康的成年雄性大鼠, 体重为 180~220 g, 随机分为缺血 2, 4, 6, 24 h 四个实验组及一个对照组共 5 个小组, 每组 12 只。采用线栓法制备脑缺血模型<sup>[14]</sup>, 实验组动物用质量分数为 5% 的水合氯醛腹腔注射麻醉后仰卧固定于手术台上, 颈部备皮。用碘伏消毒颈部皮肤, 暴露左侧颈总动脉, 找到颈外动脉和颈内动脉的分叉。将栓线由颈总动脉插入, 经颈内动脉向颅内方向推进至栓线标记即分叉处。大鼠出现呼吸加速、心跳增快的现象则表示模型制备成功, 固定栓线, 缝合皮肤。动物模型制备好后, 在相应的缺血时间点用脊椎脱臼法处死大鼠, 取出完整脑组织, 每组 12 只老鼠中 3 只用于细胞计数, 3 只用于水含量检测, 2 只用来进行氯化三苯基四氮唑(TTC)染色, 2 只进行新鲜脑组织的光谱检测, 剩余 2 只制备石蜡包埋模型然后分别进行光谱

检测。

## 3 实验结果与分析

### 3.1 新鲜脑缺血组织的太赫兹波吸收特性研究

染色法是脑缺血检测的金标准, 对脑组织进行 TTC 染色时, 健康组织中线粒体内的琥珀酸脱氢酶与 TTC 染液发生反应, 生成呈红色的甲臃, 而脑缺血组织中脱氢酶的活性下降, 不能与 TTC 染液发生反应, 呈白色。图 2 为不同缺血时间的脑组织的 TTC 染色结果, 可以看出缺血 4 h 之内的脑组织左右脑的 TTC 着色程度没有明显的差异, 无法实现脑缺血的检测; 当缺血时间达到 6 h 时左脑开始呈现苍白色而右脑无明显变化, 可以初步实现脑缺血的检测, 如图 2(d) 所示; 当缺血时间达到 24 h 时, 如图 2(e) 所示, 大鼠左脑组织几乎完全呈现白色, 证明脑缺血极为严重。

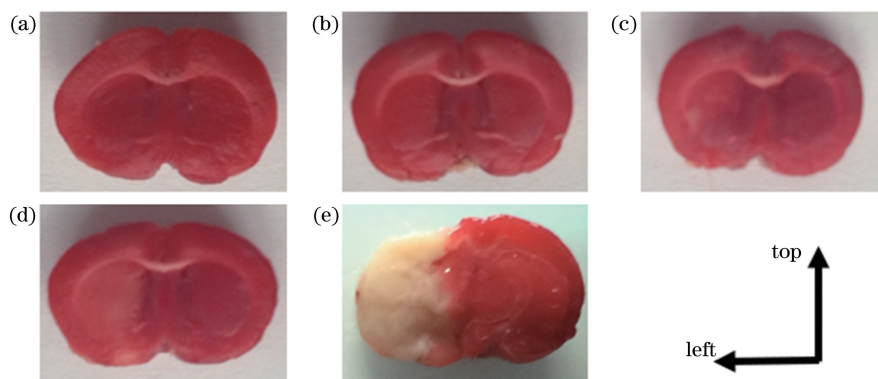


图 2 不同缺血时间的脑组织的 TTC 染色结果。(a) 0 h; (b) 2 h; (c) 4 h; (d) 6 h; (e) 24 h

Fig. 2 Results of TTC staining of brain tissues at different ischemia time. (a) 0 h; (b) 2 h; (c) 4 h; (d) 6 h; (e) 24 h

对新鲜脑缺血组织进行太赫兹时域光谱测量时, 首先使用冰冻切片将脑组织沿前端冠状面切片, 切片厚度固定为 60  $\mu\text{m}$ , 从第 50 片切片开始以 20 片为间隔取 3 片进行太赫兹光谱测量, 每个切片的左右脑各测量 3 次。为了固定切片并防止测量过

程中切片的含水量发生变化, 将切片夹在 2 片石英片之间, 并在周围涂抹一圈凡士林, 如图 3 所示。由于凡士林的厚度不均匀, 可以有效防止透射式测量带来的干涉效应。

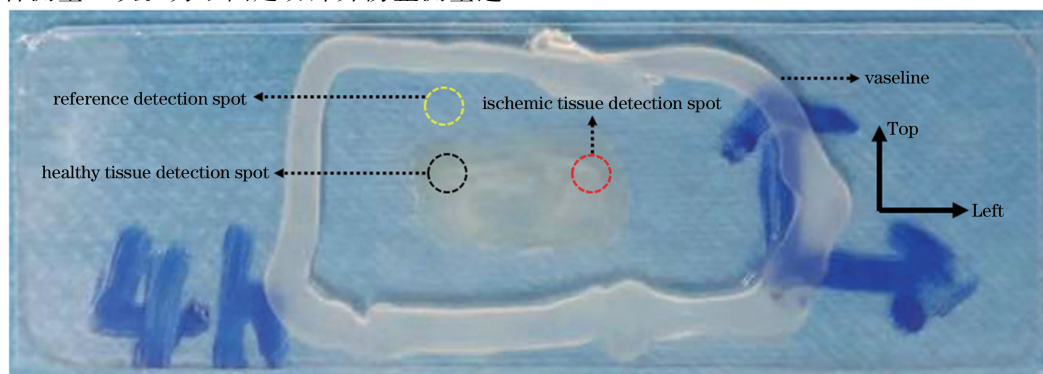


图 3 新鲜脑缺血组织切片的制备

Fig. 3 Preparation of fresh brain ischemic tissue sections

图 4(a)给出了脑缺血组织(以缺血 4 h 组织结果为例)左右脑各 3 次测量的太赫兹时域光谱信号,对时域信号作傅里叶变换可以得到对应的频域信号,如图 4(b)所示。从局部放大图中可以看出,新鲜脑缺血组织左脑和右脑的太赫兹响应特性有明显的区别,左脑对太赫兹波的吸收较强。为进一步分

析脑组织缺血时发生的变化,分别计算了左右脑在太赫兹波段的平均吸收系数和平均折射率,结果如图 4(c)、图 4(d)所示。可见缺血 4 h 的脑组织中左脑的吸收系数明显大于右脑,折射率则明显小于右脑。且左右脑组织在测量波段内吸收系数的差异比折射率的差异更为明显。

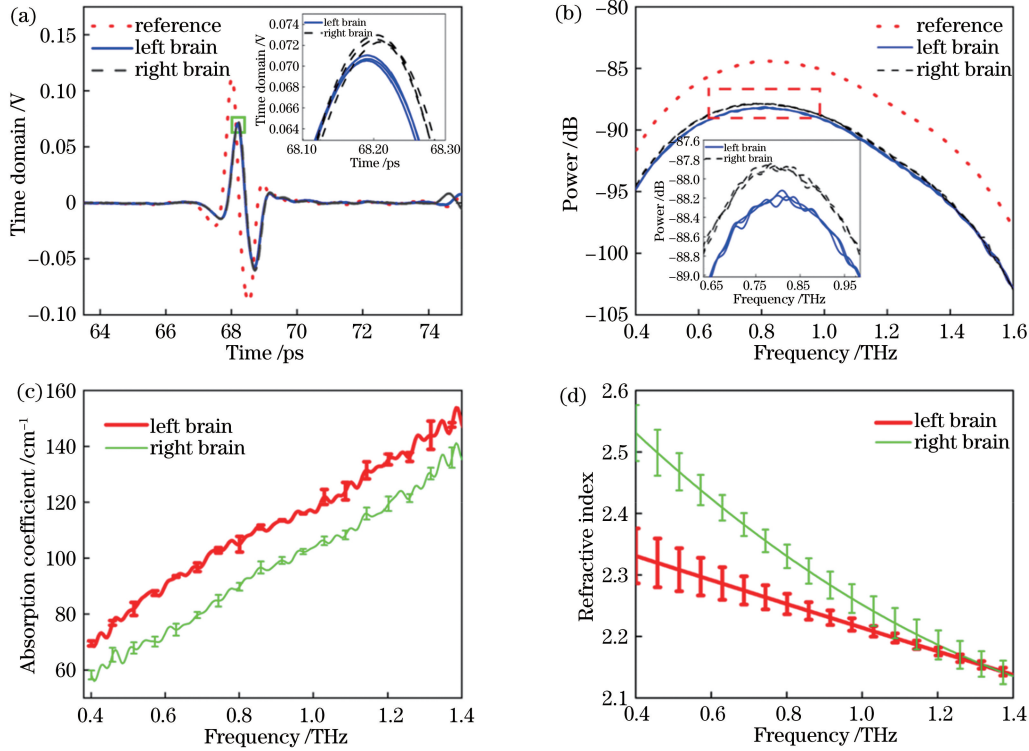


图 4 缺血 4 h 的新鲜脑缺血组织左右脑的太赫兹波性质。(a)时域谱;(b)频域谱;(c)平均吸收系数;(d)平均折射率  
Fig. 4 Terahertz wave properties of the left and right brains of fresh cerebral ischemic tissue at 4 h. (a) Time domain spectrum; (b) frequency domain spectrum; (c) average absorption coefficient; (d) average refractive index

为进一步计算不同缺血时间脑组织中左右脑的吸收系数,减小大鼠个体差异对太赫兹波检测结果的影响,将左脑与右脑吸收系数的相对差异  $\Delta\alpha$  作为比较参数,计算公式为

$$\Delta\alpha = (\alpha_L - \alpha_R) / \alpha_R, \quad (1)$$

式中,  $\alpha_L$  为左脑的平均太赫兹波吸收系数,  $\alpha_R$  为右脑的平均太赫兹波吸收系数。

图 5 为不同缺血时间的新鲜脑组织中左右脑太赫兹波吸收系数的相对差异。可以看出,随着缺血时间的不断增加(从 0 h 到 6 h),新鲜脑组织左右脑吸收系数的相对差值  $\Delta\alpha$  呈现出增大的趋势;缺血超过 6 h 后,  $\Delta\alpha$  呈现出减小的趋势。

为了研究新鲜脑组织缺血时  $\Delta\alpha$  发生变化的原因,分析了脑组织中含水量和细胞密度随缺血时间的变化。图 6(a)给出了脑组织中含水量随缺血时间的变化趋势,可以看出随着缺血时间的增加右脑

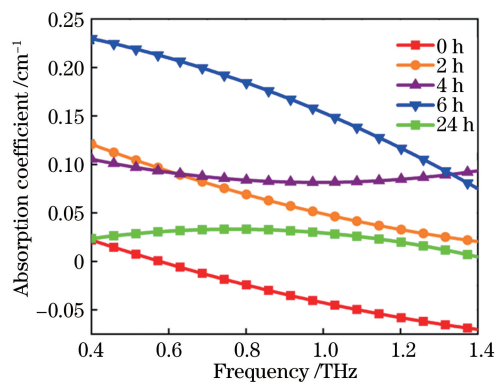


图 5 不同缺血时间的新鲜脑组织中左右脑太赫兹波吸收系数的相对差异  
Fig. 5 Relative difference of terahertz wave absorption coefficients between left and right brains in fresh brain tissue at different ischemia time

的含水量没有明显变化,而左脑的含水量明显升高,导致左脑的太赫兹波吸收系数增大,使得  $\Delta\alpha$  进一

步变大。同时在图中可以看出正常组织(缺血 0 h)中左脑的含水量略小于右脑,此即图 5 中正常组织的  $\Delta\alpha$  小于 0 的主要原因。图 6(b)给出了左脑的细胞密度随缺血时间的变化趋势,随着缺血时间的增加左脑的细胞密度明显下降,从而导致  $\Delta\alpha$  减小。

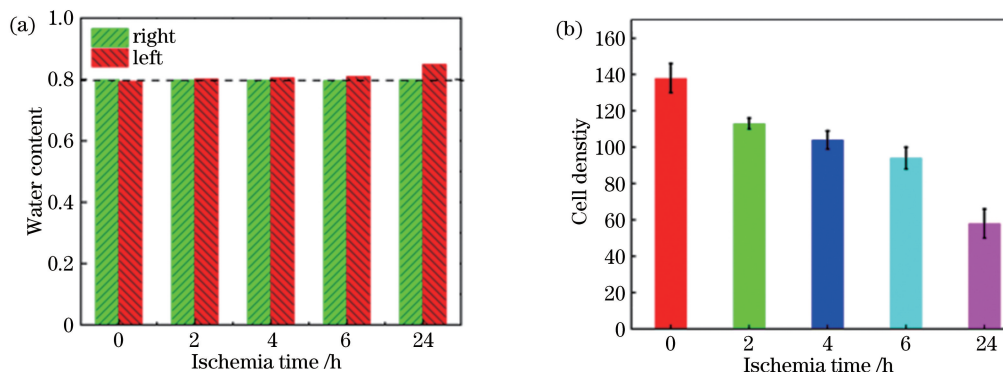


图 6 脑组织在不同缺血时间下的物理性质的变化。(a)左右脑含水量;(b)左脑细胞密度

Fig. 6 Changes in physical properties of brain tissue at different ischemia time. (a) Water content of left and right brains; (b) cell density of left brain

从图 5 中可以看出,缺血 2 h 及以上的新鲜脑缺血组织与正常组织的  $\Delta\alpha$  存在明显的差异。因此,通过对新鲜脑组织进行太赫兹时域光谱测量,并计算左右脑之间吸收系数的相对差异  $\Delta\alpha$ ,可以实现最早缺血 2 h 的新鲜脑缺血组织的检测。为了排除脑组织水分变化对测量造成的影响,进一步对石蜡包埋的脑缺血组织进行了检测。

### 3.2 石蜡包埋脑缺血组织的太赫兹波吸收特性研究

首先将石蜡包埋的脑缺血组织沿冠状面切成厚度为 0.1 mm 的薄片并置于样品架的中心孔上,按照图 7 所示位置对左右脑分别进行太赫兹时域光谱测量,每个位置测量 3 次。对时域光谱进行傅里叶变换并计算左右脑的太赫兹波吸收系数,如图 8(a)所示(以缺血 4 h 组织结果为例)。可以发现,与新鲜组织的结果恰好相反,石蜡包埋的脑缺血组织左脑的吸收系数小于右脑。根据(1)式计算得到不同缺血时间的石蜡包埋组织中左脑与右脑吸收系数的相对差异  $\Delta\alpha$ ,结果如图 8(b)所示。可以看出,随着缺血时间的延长, $\Delta\alpha$  迅速减小,这可能是由缺血所致左脑的细胞密度明显下降造成的。

分析可得,缺血 2 h 及以上的石蜡包埋脑缺血组织的  $\Delta\alpha$  与正常组织有明显的区别,且与缺血时间呈负相关。因此通过对石蜡包埋的脑缺血组织进行太赫兹时域光谱检测,并计算左右脑之间吸收系数的相对差异  $\Delta\alpha$ ,不仅可以实现最早缺血 2 h 的脑缺血检测,还有望实现对脑缺血程度的分析。为了

因此,图 5 中随着缺血时间的增加  $\Delta\alpha$  先变大后减小可能是由水含量升高和细胞密度下降共同作用导致的。此外,随着缺血时间的增加缺血区域的面积也不断增加,从左脑逐渐向右脑蔓延,这也是  $\Delta\alpha$  减小的可能原因。

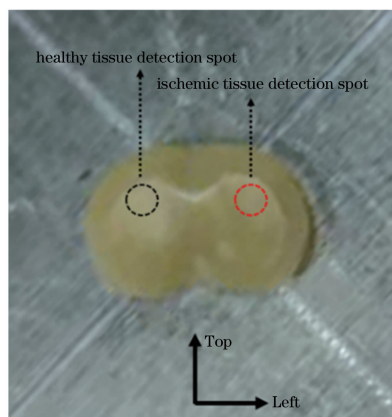


图 7 石蜡包埋脑缺血组织的制备

Fig. 7 Preparation of paraffin-embedded cerebral ischemic tissue

进一步研究  $\Delta\alpha$  的变化与左脑细胞密度变化之间的关系,将不同缺血时间的石蜡包埋脑缺血组织在 1 THz 处的  $\Delta\alpha$  和细胞密度进行‘0~1’归一化后对比,结果如图 9 所示。可以看出,石蜡包埋的脑缺血组织的  $\Delta\alpha$  和细胞密度随缺血时间的变化趋势基本一致,验证了细胞密度对石蜡包埋的脑缺血组织的  $\Delta\alpha$  的影响。

## 4 结 论

利用透射式太赫兹时域光谱系统,对新鲜和石蜡包埋的脑缺血组织进行了研究。为了减小个体差异对实验结果的影响,将缺血区域与正常区域太赫兹波吸收系数的相对差异  $\Delta\alpha$  作为研究参数。结果

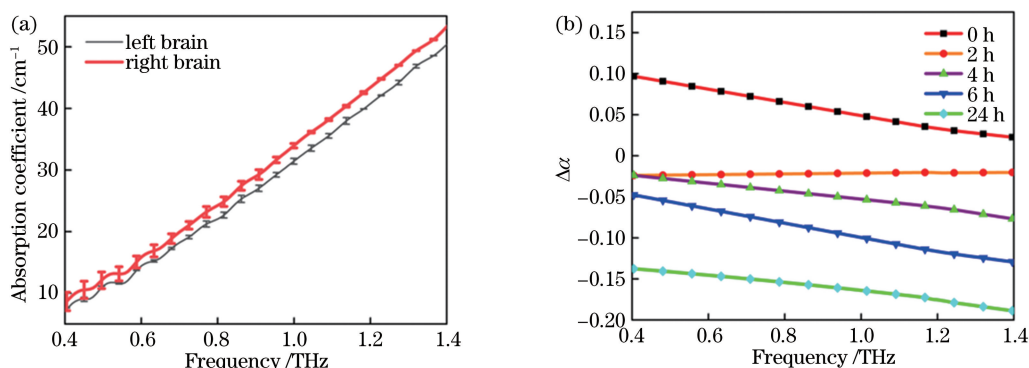


图 8 石蜡包埋脑缺血组织的太赫兹波吸收特性。(a)缺血 4 h 的石蜡包埋脑缺血组织左右脑的吸收系数；  
(b)不同缺血时间的石蜡包埋脑组织中左右脑太赫兹波吸收系数的相对差异

Fig. 8 Terahertz wave absorption characteristics of paraffin-embedded cerebral ischemic tissue. (a) Absorption coefficient of left and right brains in paraffin-embedded cerebral ischemic tissue at 4 h; (b) relative difference of terahertz wave absorption coefficients in paraffin-embedded brain tissue between left and right brains at different ischemic time

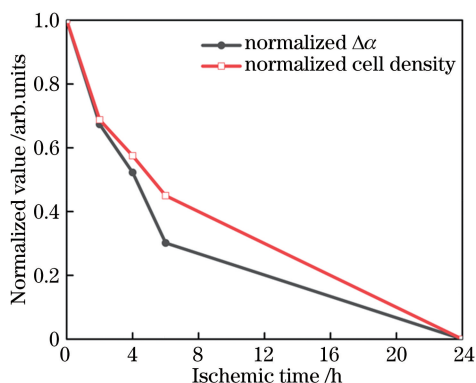


图 9 归一化的左右脑太赫兹波吸收系数的相对差异和左脑的细胞密度

Fig. 9 Normalized relative difference terahertz wave absorption coefficients between left and right brains and cell density of left brain

显示,新鲜脑缺血组织的  $\Delta\alpha$  随着缺血时间的增加呈先增大后减小的趋势,可能是由缺血区域水含量升高和细胞密度降低共同作用导致的;石蜡包埋脑缺血组织的  $\Delta\alpha$  随缺血时间的增加而减小,主要是由缺血区域的细胞密度降低决定的。太赫兹时域光谱检测可以实现最早缺血 2 h 的脑缺血组织的检测,为脑缺血的早期无标记快速检测提供了新的方法。

### 参 考 文 献

[1] Denes A, Vidyasagar R, Feng J, et al. Proliferating resident microglia after focal cerebral ischaemia in mice [J]. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2007, 27(12): 1941-1953.  
[2] Kauppinen R A. Multiparametric magnetic resonance imaging of acute experimental brain ischaemia [J].

*Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2014, 80: 12-25.

[3] Gadian D G, Frackowiak R S J, Crockard H A, et al. Acute cerebral ischaemia: concurrent changes in cerebral blood flow, energy metabolites, pH, and lactate measured with hydrogen clearance and  $^{31}\text{P}$  and  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy. I. Methodology [J]. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 1987, 7(2): 199-206.  
[4] Crockard H A, Gadian D G, Frackowiak R S J, et al. Acute cerebral ischaemia: concurrent changes in cerebral blood flow, energy metabolites, pH, and lactate measured with hydrogen clearance and  $^{31}\text{P}$  and  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy. II. Changes during ischaemia [J]. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 1987, 7(4): 394-402.  
[5] Cremers C H P, Vos P C, van der Schaaf I C, et al. CT perfusion during delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage: distinction between reversible ischemia and ischemia progressing to infarction [J]. *Neuroradiology*, 2015, 57(9): 897-902.  
[6] Kidwell C S, Wintermark M, de Silva D A, et al. Multiparametric MRI and CT models of infarct core and favorable penumbral imaging patterns in acute ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2013, 44(1): 73-79.  
[7] Liu J X, Du B, Deng Y Q, et al. Terahertz-spectral identification of organic compounds based on differential PCA-SVM method [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2019, 46(6): 0614039.  
刘俊秀, 杜彬, 邓玉强, 等. 基于差分-主成分分析-支持向量机的有机化合物太赫兹吸收光谱识别方法 [J]. *中国激光*, 2019, 46(6): 0614039.  
[8] Liu Y D, Du X Y, Li B, et al. Detection of benzoic

- acid in arrowroot by terahertz technology [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2019, 56(4): 041101.
- 刘燕德, 杜秀洋, 李斌, 等. 基于太赫兹技术的葛粉中苯甲酸的检测[J]. *激光与光电子学进展*, 2019, 56(4): 041101.
- [9] Wang Y Y, Wang L P, Li T, et al. Terahertz characteristic absorption spectrometric analysis of homocysteine[J]. *Acta Optica Sinica*, 2019, 39(10): 1030003.
- 王莹莹, 汪丽平, 李恬, 等. 同型半胱氨酸的太赫兹特征吸收光谱分析[J]. *光学学报*, 2019, 39(10): 1030003.
- [10] Wang Y Y, Chen L Y, Xu D G, et al. Three-dimensional reconstruction of rat brain trauma based on terahertz imaging[J]. *Acta Optica Sinica*, 2019, 39(3): 0317002.
- 王与焯, 陈霖宇, 徐德刚, 等. 基于太赫兹波成像的鼠脑创伤三维重构[J]. *光学学报*, 2019, 39(3): 0317002.
- [11] Taday P F, Bradley I V, Arnone D D. Terahertz pulse spectroscopy of biological materials: L-glutamic acid[J]. *Journal of Biological Physics*, 2003, 29(2/3): 109-115.
- [12] Li Z. Research for the application of the terahertz time-domain spectroscopy (THz-TDS) in cerebral ischemia and glioma[D]. Chongqing: Third Military Medical University, 2014: 25-30.
- 李钊. 太赫兹时域光谱在脑缺血和脑胶质瘤探测中的应用研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2014: 25-30.
- [13] Zhang Z, Meng K, Zhu L G, et al. Study on terahertz absorption characteristics of ischemic rat brain tissue[J]. *Laser Technology*, 2016, 40(3): 372-376.
- 张章, 孟坤, 朱礼国, 等. 缺血大鼠脑组织的太赫兹波吸收特性研究[J]. *激光技术*, 2016, 40(3): 372-376.
- [14] Longa Z, Weinstein R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.