

# 生物组织光学参数的离体和在体无损测量\*

张琳 张连顺 许棠 张春平 田建国

(南开大学物理科学学院 光子学中心, 天津 300071)

**摘要** 利用漫反射无损测量装置对实际生物组织的光学性质进行了测量,同时对人体前臂进行了在体测量,利用漫射近似所得到的两个解析表达式,对实验数据进行非线性拟合得到了两组光学特性参数,与其它文献中的结果相比较,一方面证实了我们实验设计的可行性,另一方面验证了漫射近似所得到的两个解析表达式之一更准确一些.

**关键词** 组织;无损测量;光学参数;漫射近似

**中图分类号** R318.51 **文献标识码** A

## 0 引言

激光在医学诊断和治疗中的应用使得激光与生物组织的相互作用的研究成为当今科学研究的一个热点. 此研究热点中重要的一项即是对生物组织光学特性参数,如吸收系数、散射系数和散射相位函数或平均散射余弦以及折射率等的确定. 对于确定生物组织光学特性的方法可归于两类,一类是有损测量,即测量中需要对组织体进行切片<sup>[1,2]</sup>,这类方法不能对生物体进行实时在体测量,且利用切片测量获得的参数因离体而与实际值也有所不同. 另一类即属于无损测量,可实现对组织体实时在体测量<sup>[3]</sup>,这样可更准确获得组织参数,给医学诊断和治疗提供更可靠的数据. 因而对组织体无损测量的研究更有实际意义,有望实现人类疾病的无损光诊断.

无损测量一般是利用实验测量获得组织体表面的漫反射光分布,光入射到组织在组织内不断的被散射和吸收,其表面漫反射光携带了组织内部的结构信息,是由组织的光学特性决定的<sup>[4,5]</sup>,根据漫射理论获得的解析表达式对实验数据进行拟合,可反演获得组织光学特性参数. 利用我们的无损测量实验装置,对生物组织模拟液及实际生物组织进行了测量,同时对人体前臂进行了在体测量,利用漫射近似所得到的两个解析表达式,对实验数据非线性拟合得到了两组光学特性参数,与其它文献中的结果相比较,一方面证实了我们实验设计的可行性,另一方面验证了漫射近似所得到的解析表达式的正确性. 同时结果也显示了我们的无损测量方法还存在不足之处,在以后的实验中还需进一步完善以争取实验室装置可用于实际的医学无损光诊断.

## 1 理论

通常漫射方程的解被用于与实验数据拟合来获得所要的光学参数. 尽管漫射方程只是更准确的传输方程的近似,但由于能从其得到介质内部及表面光分布的解析解,因而仍得到了广泛的应用. 我们参考 Kienle 等人的研究<sup>[6]</sup>,用漫射方程得到的两个解析解对结果进行了分析,确定了解析解的精确度.

对于半无限厚介质的漫射方程,由于折射率的不匹配,必然涉及到边界条件的问题. 很多研究表明<sup>[7]</sup>,外延边界条件(简称 EBC,即假定光能流率在混沌生物组织外部一个假想的边界上为零)具有更准确更简洁的优点. 在准直无限细光束垂直入射介质表面的条件下,运用 EBC 和镜像光源的方法,求解漫射方程可得稳态下半无限厚介质的光能流率为<sup>[8]</sup>

$$\phi(\rho, z) = \frac{1}{4\pi D} \left( \frac{\exp \left\{ -\mu_{\text{eff}} \left[ (z - z_0)^2 + \rho^2 \right]^{1/2} \right\}}{\left[ (z - z_0)^2 + \rho^2 \right]^{1/2}} - \frac{\exp \left\{ -\mu_{\text{eff}} \left[ (z + z_0 + 2z_b)^2 + \rho^2 \right]^{1/2} \right\}}{\left[ (z + z_0 + 2z_b)^2 + \rho^2 \right]^{1/2}} \right) \quad (1)$$

式中  $D = 1/[3(\mu_a + \mu'_s)]$  是漫射常数,  $\mu'_s = (1 - g)\mu_s$  为有效衰减系数,  $\mu_s$  为散射系数,  $g$  为平均散射余弦,  $\mu_a$  为吸收系数.  $\rho$  是距光源的径向距离,  $z$  是距边界的法向距离.  $\mu_{\text{eff}} = [3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)]^{1/2}$ ,  $z_0 = (\mu_a + \mu'_s)^{-1}$ ,  $z_b = \frac{1 + R_{\text{eff}}}{1 - R_{\text{eff}}} 2D$ .  $R_{\text{eff}}$  代表在介质边界向内的漫反射系数.  $R_{\text{eff}}$  可根据 Haskell 等<sup>[9]</sup>的研究结果计算,折射率为 1.4 (此为已测量的组织参数<sup>[10,11]</sup>的一个很具代表性的值)时,  $R_{\text{eff}} = 0.493$ .

由 Hielscher et al. 的研究可知<sup>[12]</sup>,当光能流率穿过边界时,介质的漫反射可由下式算得

$$R(\rho) = -D \nabla \phi(\rho, z) (-z) |_{z=0} \quad (2)$$

由方程(1)和(2)可得稳态下的漫反射解为

$$R(\rho) = \frac{1}{4\pi} \left[ z_0 \left( \mu_{\text{eff}} + \frac{1}{r_1} \right) \frac{\exp \left( -\mu_{\text{eff}} r_1 \right)}{r_1^2} + \right.$$

\*国家自然科学基金(No. 60025512 和 No. 60078012)资助  
Tel: 022-23503697 Email: zhangcp@nankai.edu.cn  
收稿日期: 2003-10-17

$$(z_0 + 2z_b) \left( \mu_{\text{eff}} + \frac{1}{r_2} \right) \frac{\exp(-\mu_{\text{eff}} r_2)}{r_2^2} \quad (3)$$

根据 Haskell 等的研究<sup>[9]</sup>, 在漫射理论中, 辐射被表达为两项之和, 一项正比于光能流率, 另一项正比于光通量, 这一项应当远小于正比于光能流率的项. 由此对于稳态下的漫反射的积分可表示如下

$$R(\rho) = \int_{2\pi} d\Omega [1 - R_{\text{res}}(\theta)] \frac{1}{4\pi} [\phi(\rho, z=0) + 3D \frac{\partial \phi(\rho, z)}{\partial z} \cos \theta] \cos \theta \quad (4)$$

式中  $R_{\text{res}}(\theta)$  是一个相对于边界法线的人射角为  $\theta$  的光子的菲涅耳反射系数. 当折射率  $n = 1.4$  时, 方程(4)给出

$$R(\rho) = 0.118\phi(\rho, z=0) + 0.306R(\rho) \quad (5)$$

我们把方程(5)记作从 EBC 获得的漫反射, 而如果仅考虑光能流率项即方程(3)时, 简记为 EBCF. 我们将利用这两个解对实验数据拟合, 通过对已知光学特性参数的组织模拟液的测量, 以及与他人结果的比较, 确定了方程(5)表示的解更准确一些.

## 2 材料和方法

图 1 是我们测量组织表面漫射光分布的实验装置.

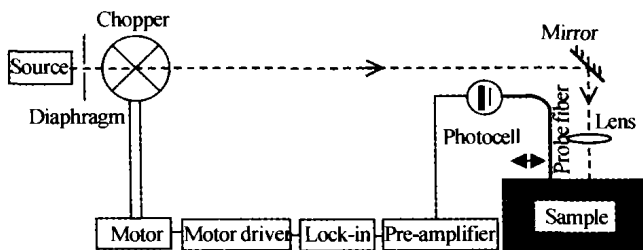


图 1 无损法测量  $\mu_s, \mu_a$  实验装置

Fig. 1 Experimental setup for noninvasive measurements to determine  $\mu_s, \mu_a$ .

波长为 650 nm 的半导体激光器作为光源, 激光束经光阑、斩波器后, 由一反射镜反射至一焦距为 11.5 cm 的凸透镜上, 而后聚焦在待测样品表面(注意待测样品的表面落在凸透镜的焦深处, 以保证无限细光束垂直入射样品表面). 一根可沿样品表面水平移动的平切光纤(直径 600  $\mu\text{m}$ , N. A. 0.41)作为探测光纤将表面漫反射光耦合至光电池, 光电池输出信号经放大电路后, 送入锁相放大器(Standard Research Systemst 生产, 型号为 SR830). 实验中为使探测位置与光信号转换的电压一一对应, 应确保测量系统工作在线性区域(即输入光功率与输出电压应为线性关系). 测量前已对系统工作的线性区进行了测试, 其线性区之一是在输入光功率为 0 ~ 1.015  $\mu\text{W}$  时, 而我们实验中探测的光信号均小于 1  $\mu\text{W}$ , 保证了系统工作在线性区. 测量中, 沿水平

方向移动光纤, 即可获得距光源不同位置处的样品表面对应的漫射光分布(测量中利用附加的标尺来保证探测光纤与组织表面距离的均一性), 利用方程(3)和(5)对实验数据进行非线性拟合, 即可获得光学特性参数  $\mu_a$  和  $\mu_s$ .

被测样品为: 生物组织模拟液(Intralipid-10% 的水溶液), 其配比为: 150 mL Intralipid-10% 与 1400 mL 蒸馏水混合. 离体生物组织(猪肌肉和鸡大胸)冷冻于  $-2^\circ\text{C}$ . 冷冻为了便于将样品切平, 以保证实验组织表面的平整. 测量时将样品取出令其达至室温, 以避免局部明显的不均匀. 对于猪肌肉样品, 其尺寸为: 14 cm  $\times$  8 cm  $\times$  2.5 cm, 被测表面尺寸为: 14 cm  $\times$  8 cm. 鸡大胸的尺寸为: 11 cm  $\times$  8 cm  $\times$  2.5 cm, 被测表面尺寸为: 11 cm  $\times$  8 cm. 另对一青年女性的前臂内侧进行了在体测量, 并同样利用半无限厚介质模型, 拟合得出了光学参数.

## 3 结果与分析

我们把测得的实验数据利用非线性最小二乘法与方程(3)和(5)分别进行拟合, 可得两组光学参数. 由方程(3)拟合得到的参数记作 EBCF, 而由方程(5)拟合得到的参数记作 EBC. 对于生物组织模拟液得到的拟合曲线如图 2 所示, 拟合参数值如表 1 所示.

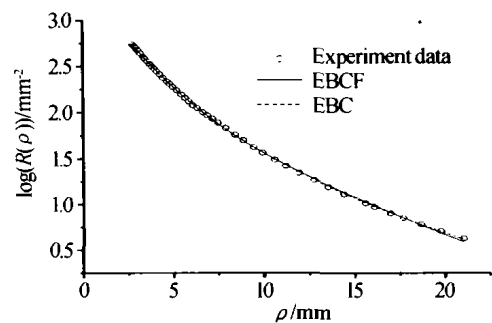


图 2 组织模拟液表面光分布及非线性拟合结果

Fig. 2 The light distribution on the surface of the tissue-simulating phantom and the non-linear fitting results

表 1 非线性拟合得到的组织模拟液参数值与其它结果的比较

		波长/nm	$\mu_a/\text{mm}^{-1}$	$\mu_s/\text{mm}^{-1}$
本文	EBCF	650	0.12307	3.25459
	EBC	650	0.00475	9.54635
Star et al		630	0.0095	9.35

由表 1 中比较可知, 对于本文中 Intralipid-10% 的测量结果, 利用 EBC 公式拟合得到的结果与 Star 等人的测量结果<sup>[13]</sup> 更为吻合. 其中对于  $\mu_s$ , 利用 EBC 公式得到的结果与 Star 等人的测量结果<sup>[13]</sup> 误差为 2.1%, 对于  $\mu_a$  的值则在同一数量级上, 而利用 EBCF 公式拟合得到的结果其误差对于  $\mu_s$  为 187.29%, 对于  $\mu_a$  的值则相差 2 个数量级. 实际

上,通过对其它文献中报道的 Intralipid-10% 的实验数据<sup>[13-16]</sup>的分析,我们发现,由于测量方法、样品来源及配比的不同,得到的 Intralipid-10% 的吸收系数及有效衰减系数值均有所不同,其吸收系数值最大相差 2 个数量级,有效衰减系数误差范围为: 3.85% ~ 88.13%。吸收系数差异很大是因为 Intralipid-10% 是高散射样品,本身吸收系数绝对值很小,测量上的细小误差即可带来结果的巨大差异。把本文得到的参数值分别与其它文献报道的等效参数值相比较,可知利用 EBC 公式拟合出的结果,对于  $\mu_s$  其误差范围为: 1.71% ~ 60.44%, 对于  $\mu_a$  的值最大相差 1 个数量级,而利用 EBCF 公式拟合出的结果,对于  $\mu_s$  其误差范围为: 82.82% ~ 243.95%, 对于  $\mu_a$  的值最大相差 3 个数量级。通过以上分析可知,利用 EBC 公式拟合得到的结果与其它文献中的结果符合得较好,其最大测量误差均小于以前报道数据的最大误差,况且考虑到误差来源部分是测量方法、样品来源及配比的不同带来的,还有就是我们实验所用光源波长与他人试验所用波长也不完全相同,这也会造成测量结果的不同。综上考虑,可验证我们无损测量实验装置的可行性,并且可知该无损测量装置与 EBC 理论公式相结合才可得出更为合理亦更有实际价值的结果。(注:本文引用的其它文献中的 Intralipid-10% 的参数值<sup>[13-16]</sup>在比较时为了单位的统一都进行了换算)。

对于离体生物组织猪肌肉及鸡大胸的测量,其拟合得到的参数值如表 2 所示,各拟合曲线分别示于图 3 和图 4 中。

表 2 非线性拟合得到的组织参数与他人测量结果的比较

测量者	波长 /nm	理论公式	猪肌肉		鸡大胸	
			$\mu_a/\text{mm}^{-1}$	$\mu_s/\text{mm}^{-1}$	$\mu_a/\text{mm}^{-1}$	$\mu_s/\text{mm}^{-1}$
本文	650	EBCF	0.01814	0.16885	0.0009	0.59182
本文	650	EBC	0.02035	0.23856	0.00154	0.46932
kienle	633				0.0038	0.42
谢树森等	633		0.04	0.27		

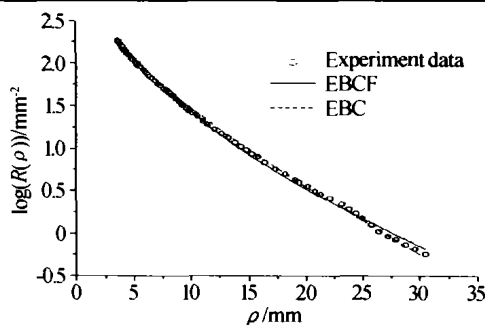


图 3 猪肌肉表现光分布及非线性拟合结果  
Fig. 3 The light distribution on the surface of the loin pork and the non-linear fitting results

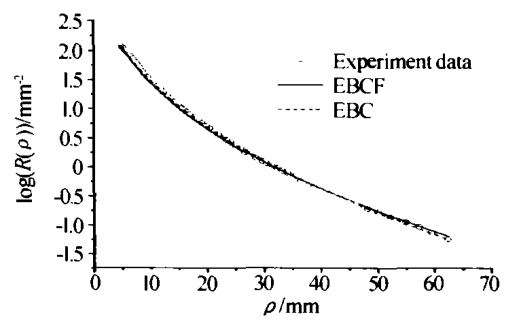


图 4 鸡大胸表面光分布及非线性拟合结果  
Fig. 4 The light distribution on the surface of the chicken and the non-linear fitting results

我们把本文所得的猪组织的光学参数与谢树森等人用波长为 633 nm 的 He-Ne 激光联合测定组织体表面漫反射率和组织内光能流率分布<sup>[17]</sup>, 并利用漫射理论和 Monte Carlo 模型的部分结论求出的猪组织的光学参数相比较,由表 2 可看出,对于猪肌肉,其比较结果表明,利用 EBC 理论公式拟合得到的吸收系数  $\mu_a$  及有效衰减系数  $\mu_s$  更接近于谢树森等人的测量结果,而对于结果之间的实际差异则有可能来自所测具体样品的差异、所用光源波长的不同及所用的测量方法和处理数据方法的不同,也符合长波长处的吸收系数和散射系数应当小于短波长处的值的一般规律。对于鸡大胸的测量结果,我们与 Kienle 等人用 CCD 非接触法,在波长为 633 nm 的光照下,测量组织表面的绝对漫反射光分布<sup>[3]</sup>, 用蒙特卡罗仿真算法训练的神经网络得到的鸡大胸的光学特性参数相比较,得出了与猪组织相类似的结论。

另外,我们对一青年女性的前臂内侧进行了在体测量,数据拟合曲线如图 5 所示。对实验数据进行非线性拟合的结果用 EBCF 公式为:  $(\mu_a, \mu_s) = (0.03568 \pm 0.00074, 0.20024 \pm 0.00619)$ , 用 EBC 公式为:  $(\mu_a, \mu_s) = (0.2158 \pm 0.002, 0.4507 \pm 0.03059)$ , 单位为  $\text{mm}^{-1}$ 。1997 年 S. J. Matche<sup>[18]</sup>用在距入射点 4 cm 处测得的时间分辨漫反射率的瞬时点扩散函数和理论表达式拟合的方法得到人的前

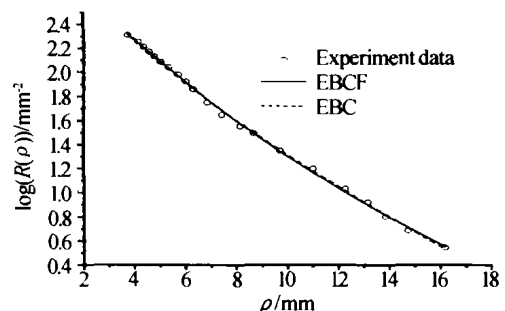


图 5 人体前臂内侧表现光分布及非线性拟合结果  
Fig. 5 The light distribution on the surface of the forearm and the nonlinear fitting results

臂在波长为 800 nm 下的光学特性参数为:  $(\mu_s, \mu_a) = (0.023 \pm 0.004, 0.68 \pm 0.08)$ , 单位为  $\text{mm}^{-1}$ . 与我们的实验结果相比较, 同样可知, 对于 EBC 拟合得出的结果与他人的结果更接近, 而具体值的差异可能来自于所测的人的个体的差异、光源波长的不同以及所用测量方法和处理数据方法的不同.

在数据测量中距离误差为  $\pm 0.005$  mm, 由光强转换成的电压读数精度为 0.001 mV, 表中所给数据为拟合所得结果. 考虑到测量误差, 对于  $\mu_s$  和  $\mu_a$ , 其精度分别可至小数点后第二位和小数点后第三位, 对于组织模拟液的  $\mu_a$  值, 由于其绝对值较小, 其精度可至小数点后第四位. 对数据进行非线性最小二乘法拟合, 所得参数值的拟合标准误差为: 对 EBC,  $\mu_s$  和  $\mu_a$  分别小于 0.62% 和 0.074%; 对 EBCF,  $\mu_s$  和  $\mu_a$  分别小于 4% 和 0.22%. 这也证明了我们利用 EBC 公式拟合所得的参数值的偏差要小一些.

另外, 从我们的组织光学参数的拟合结果来看, 由 EBCF 拟合出的吸收系数和有效衰减系数的值要比由 EBC 拟合出的值要小一些(鸡大胸的有效衰减系数值除外), 这可能就源于 EBCF 仅考虑了与光能流率有关的一项而忽略了另一与光能量有关的项, 从而导致了系数值的减小. 由此可知, 由 EBC 拟合出的结果与实际的组织光学参数值更接近, 也就更具有实际的意义. 这也说明不同的理论解析式拟合得到的参数值不同, 想获得更准确、更有实际价值的参数值, 除了实验装置的改进与提高, 建立更精确的理论模型, 获得更精确的解析值也是需要努力的一个方面.

## 4 结论

利用漫反射无损测量装置, 测量了生物组织模拟液及实际生物组织表面的漫反射光分布, 同时也对人体前臂进行了在体测量, 利用两个解析公式对实验数据进行非线性拟合, 证实其中由 EBC 公式拟合得出的结果精度更高, 更有实际的应用价值, 同时也证实了我们装置的可行性. 我们的实验结果和分析结果将有助于促进无损检测技术在生物医学诊断中的实际应用.

### 参考文献

- Pickering J W, Prah S A, Van Wieringen N, *et al.* Double-integrating-sphere system for measuring the optical properties of tissue. *Applied Optics*, 1993, **32**(4):399~410
- 朱并, 骆清铭, 曾绍群, 等. 用于组织光学特性参量测量的改进型双积分球系统. *光子学报*, 2001, **30**(10):1175~1181
- Zhu D, Luo Q M, Zeng S Q, *et al.* *Acta Photonica Sinica*, 2001, **30**(10):1175~1181
- Kienle A, Lilge L, Patterson M S, *et al.* Spatially resolved absolute diffuse reflectance measurements for noninvasive determination of the optical scattering and absorption coefficients of biological tissue. *Applied Optics*, 1996, **35**(13):2304~2314
- 骆清铭, 李再光. 生物组织中激光传输规律的模拟与检验. *光子学报*, 1995, **24**(2):125~129
- Luo Q M, Li Z G. *Acta Photonica Sinica*, 1995, **24**(2):125~129
- Contini D, Martelli F, *et al.* Photon migration through a turbid slab described by a model based on diffusion approximation: I. Theory. *Applied Optics*, 1997, **36**(9):4587~4599
- Kienle A, Patterson M S. Improved solutions of the steady-state and the time-resolved diffusion equations for reflectance from a semi-infinite turbid medium. *Journal of the Optical Society of America A*, 1997, **14**(1):246~254
- Groenhuis R A, *et al.* Scattering and absorption of turbid materials determined from reflection measurements: 1. theory. *Applied Optics*, 1983, **22**(16):2456~2462
- Farrell T J, Patterson M S, Wilson B C. A diffusion theory model of spatially-resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties in vivo. *Medical Physics*, 1992, **19**(4):879~888
- Haskell R C, Svaasand L O, Tsay T T, *et al.* Boundary conditions for the diffusion equation in radiative transfer. *JOSA A*, 1994, **11**(10):2727~2741
- Bolin F P, Preuss L E, Taylor R C, *et al.* Refractive index of some mammalian tissue using a fiber optic cladding method. *Applied Optics*, 1989, **28**(12):2297~2303
- Tearney G J, Brezinski M E, Southern J F, *et al.* Determination of the refractive index of highly scattering human tissue by optical coherence tomography. *Optics Letters*, 1995, **20**(21):2258~2260
- Hielscher A H, Jacques S L, Wang L, *et al.* The influence of boundary conditions on the accuracy of diffusion theory in time-resolved reflectance spectroscopy of biological tissue. *Physics in Medicine and Biology*, 1995, **40**(11):1957~1975
- Star W M, Marijnissen J P A, Jansen H, *et al.* Light dosimetry for photodynamic therapy by whole bladder wall irradiation. *Photochemistry and Photobiology*, 1987, **46**(5):619~624
- Staveren H J van, Moes C J M, Marle J van, *et al.* Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400~1100 nm. *Applied Optics*, 1991, **30**(31):4507~4514
- Moes C J M, Gemert M J C van, Star W M, *et al.* Measurements and calculations of the energy fluence rate in a scattering and absorbing phantom at 633 nm. *Applied*

- Optics, 1989, **28**(12):2292 ~ 2296
- 16 Flock S T, Jacques S L, Wilson B C, *et al.* The optical properties of Intralipid: a phantom medium for light propagation studies. *Lasers in Surgery and Medicine*, 1992, **12**(5):510 ~ 519
- 17 谢树森,李晖. 生物组织光学性质的测量原理与技术. 中国生物医学工程学报,1997,**16**(4):327 ~ 332
- Xie S S, Li H. *Chinese Journal of Biomedical Engineering*, 1997,**16**(4): 327 ~ 332
- 18 Matcher S J, Cope C, Delpy D T. In vivo measurements of the wavelength dependence of tissue-scattering coefficients between 760 and 900 nm measured with time-resolved spectroscopy. *Applied Optics*, 1997,**36**(1):386 ~ 396

## In Vitro and in Vivo Noninvasive Measurements for the Optical Properties of the Biological Tissues

Zhang Lin, Zhang Lianshun, Xu Tang, Zhang Chunping, Tian Jianguo  
*Photonics Center, Institute of Physics, Nankai University, Tianjin 300071*

Received date:2003-10-17

**Abstract** An experimental system for noninvasive measurement of the optical properties of the biological tissues was used to measure the optical properties of biological tissues in vitro and the forearm in vivo. The optical properties of the biological tissues were obtained by using diffusion approximation and fitting experimental data, and comparison of our results with other's results shows that our measurement setup is valid and the one of the analytic formulae is more accurate.

**Keywords** Tissue; Noninvasive measurement; Optical parameters; Diffusion approximation



**Zhang Lin** was born on October 12, 1975. Now she is studying at Nankai University for Master degree. Her research interests include photon migration and imaging in bio-tissue, measurements of the optical properties of bio-tissue, photon-biology and bio-photonics.