

频域近红外光谱方法定量测量组织氧饱和度

赵军 丁海曙* 腾轶超

(清华大学生物医学工程系,北京 100084)

摘要 通过精确测量光子密度波的相位延迟和幅度衰减,借助于一个光学参数已知的校准模型,可以定量检测组织的吸收系数和约化散射系数.通过测量多个波长下组织的吸收系数,可以进一步求解出人体局部组织的血氧饱和度.血液-酵母溶液仿真模型和前臂动脉阻断实验的结果都表明该三波长的频域近红外光谱系统可以实时定量地检测组织氧饱和度的动态变化情况.

关键词 近红外光谱;光子密度波;吸收系数;组织氧饱和度

中图分类号 R318.51 **文献标识码** A

0 引言

生物组织光学参数的定量测量为人们研究与之密切相关的组织内各种生化、生理以及病理过程提供了一种崭新的无创伤的检测手段.在近红外波段内,影响组织光吸收系数的主要是血红蛋白(hemoglobin)的含氧状态和浓度.因此通过实时定量测量组织的光吸收系数,就可以得到与组织的代谢活动密切相关的血液动力学信息^[1].近红外光谱无创伤检测组织光学特性的技术已经被广泛应用于局部组织血氧含量的监测^[2-4]、乳腺癌早期检测^[5]以及脑功能成像研究^[6]中.

从微观角度来说,光子在生物组织中的迁移过程是一个随机游走过程.每个光子在组织中不断地发生弹性散射直至被组织吸收或逸出边界.被检测器检测到的光子在组织内的飞行路线长度可以反映在其飞行时间上.目前有两种方法可以精确测量光子在组织内的飞行时间:时域方法和频域方法.两者的区别主要在于采用的光源形式不同.时域方法采用的是皮秒级超短脉冲光源,直接检测出射脉冲的时间延迟和衰减,并利用曲线拟合反演算法求解出组织的光学参数^[7,8];而频域方法通常采用高频(数百 MHz)正弦调制光源.由于组织的吸收和散射作用,该正弦调制光在组织中传播时其强度受到很大的衰减,同时其相位也产生了延迟.在检测器处检测到的出射光和入射光之间的相位差反映了光子在组织内的平均飞行时间,而衰减后的振幅则反应了组织的衰减特性.借助一个生物组织中光子传输的数学模型,即可以由这些振幅和相位信息求解出组织的吸收和散射系数^[9].相比于时域方法,频域方法具有系统简单,信噪比高,便携性好的特点,更容易推向实际临床应用.

1 理论基础

1.1 频域漫射方程

光子在生物组织这种强散射介质中的传播过程可以利用经典的玻尔兹曼输运方程(Boltzmann transport equation)来精确地描述.但是该输运方程非常复杂,只有在极少数的特殊情况下才可以得到解析解,即使用数值方法求解也不是一件容易的事情.因此,通常采用P1近似来求解输运方程,这时输运方程可以简化成光子漫射方程(Photon diffusion equation)^[1]

$$\frac{1}{\nu} \frac{\partial \Phi(r,t)}{\partial t} + \mu_a \Phi(r,t) - D \nabla^2 \Phi(r,t) = S(r,t) \quad (1)$$

式中, $\Phi(r,t)$ 是光通量(photon fluence); μ_a 是组织的吸收系数; μ'_s 是组织的约化散射系数,其定义为 $\mu'_s = (1-g)\mu_s$, g 是各项异性因子, μ_s 是散射系数;光子扩散系数 $D = 1/3(\mu_a + \mu'_s)$; $S(r,t)$ 是光源; r 是探测器和光源之间的距离; ν 是光在这种介质中的传播速度.

在频域系统中,通常使用一个正弦调制的各向同性点光源(图1),此光源可以表示成

$$S(r,t) = S_{DC}(r) + S_{AC}(r) \exp(-i\omega t + \varepsilon) \quad (2)$$

式中, $\omega = 2\pi f$ 是调制角频率, S_{DC} 和 S_{AC} 分别是调制光源的直流分量和交流分量, $S(r,t)$ 从微观上可以

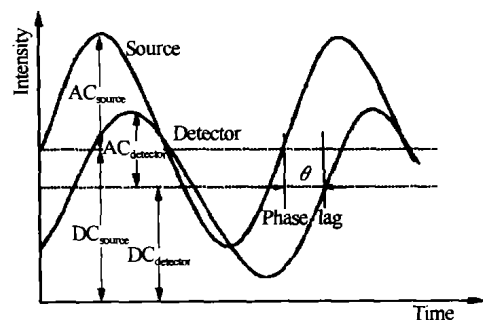


图1 正弦调制光源与测量信号示意图

Fig. 1 Schematic representation of the frequency-domain NIRS

*Tel:010-62783631-1 Email:dhs-dea@mail.tsinghua.edu.cn
收稿日期:2004-02-09

理解成每秒钟从光源发出的光子数.

从宏观上看,大量从正弦调制的点光源发出的光子在组织中的随机游走过程形成了一个以点光源为中心,振幅随着与点光源距离的增加而呈指数衰减的球面波,通常称之为漫射光子密度波(Diffuse Photon Density Wave,DPDW).与光源一样,光子密度波也是由直流分量和交流分量两个部分组成的,通常我们只关心其中的交流分量.在无限大的均匀介质中,漫射逼近方程的解析解中的交流分量可以表示为^[10]

$$\Phi_{AC}(r,t) = \frac{S_{AC}}{4\pi Dr} \exp(ikr) \exp(-i\omega t + \varepsilon) \quad (3)$$

其中,波数 k 是一个复数

$$k = \sqrt{\frac{\mu_a}{2D} \left[\left(\sqrt{1 + \left(\frac{\omega}{\nu\mu_a} \right)^2} + 1 \right)^{1/2} + i \left(\sqrt{1 + \left(\frac{\omega}{\nu\mu_a} \right)^2} - 1 \right)^{1/2} \right]} \quad (4)$$

为了清晰起见,将式(4)代入式(3),整理后提取 $\Phi_{AC}(r,t)$ 的实部和虚部,并重写成如下的相位和振幅形式

$$\theta_{measure} = r \sqrt{\frac{\omega^2 + \nu^2 \mu_a^2 - \nu \mu_a}{2\nu D}} + \theta_0 \quad (5)$$

$$A_{measure} = \frac{A_0}{4\pi Dr} \exp\left(-r \sqrt{\frac{\omega^2 + \nu^2 \mu_a^2 + \nu \mu_a}{2\nu D}}\right) \quad (6)$$

式中, $\theta_{measure}$ 和 $A_{measure}$ 分别是在距离点光源 r 处测量到的光子密度波的相位和幅度.通过检测这两个参数即可求解组织光吸收系数 μ_a 和约化散射系数 μ_s' . θ_0 和 A_0 是由仪器本身的响应特性引起的初始相位和初始幅度,它们可以通过一个光学参数已知的标准模型的测量进行标定.

将实际测量到的相位差和幅度衰减代入式(5)和(6),通过 Levenberg-Marquardt 非线性拟合即可得到组织的吸收系数 μ_a 和约化散射系数 μ_s' .

1.2 修正的 Beer-Lambert 定理

根据修正的 Beer-Lambert 定理^[1],组织的吸收系数 μ_a 是组织中不同色团(chromophore)的消光系数与其浓度乘积的累加和.在 700 ~ 1000 nm 的近红外窗口内,血液中的主要吸收色团是氧合血红蛋白(HbO₂)和还原血红蛋白(Hb)

$$\mu_a^\lambda = \varepsilon_{HbO_2}^\lambda [HbO_2] + \varepsilon_{Hb}^\lambda [Hb] + \mu_a^B \quad (7)$$

式中, μ_a^λ 是特定波长的吸收系数, $\varepsilon_{HbO_2}^\lambda$ 和 ε_{Hb}^λ 分别是已知的该波长氧合血红蛋白和还原血红蛋白的消光系数, μ_a^B 是一个相对固定的背景吸收系数.因此根据测量得到的三种波长下的吸收系数,联立求解超定方程组

$$\begin{cases} \mu_a^{780} = \varepsilon_{HbO_2}^{780} [HbO_2] + \varepsilon_{Hb}^{780} [Hb] + \mu_a^B \\ \mu_a^{810} = \varepsilon_{HbO_2}^{810} [HbO_2] + \varepsilon_{Hb}^{810} [Hb] + \mu_a^B \\ \mu_a^{830} = \varepsilon_{HbO_2}^{830} [HbO_2] + \varepsilon_{Hb}^{830} [Hb] + \mu_a^B \end{cases} \quad (8)$$

可以得到氧合血红蛋白浓度 $[HbO_2]$ 和还原血红蛋白浓度 $[Hb]$. 并进一步得到临床上使用的组织氧饱和度(StO_2) 指标

$$StO_2(\%) = \frac{[HbO_2]}{[Hb] + [HbO_2]} \times 100 \quad (9)$$

2 仪器原理

该仪器利用正交(In-phase and Quadrature, I&Q) 相位解调技术,直接检测两个射频信号之间的相位差 θ ,通常称之为内差式(homodyne) 系统^[9,11]. 系统原理框图如图 2. 信号发生器(OSC) 产生的 140MHz 射频信号通过一个功分器分成等振幅、同相位的两路信号. 一路作为激光管驱动电路的调制信号,另一路作为参考信号提供给正交解调器(I&Q Demodulator) 的本地振荡输入端(LO). 该仪器利用三个波长(780 nm, 810 nm, 830 nm) 的半导体激光管(LD) 作为光源,通过一个 1 × 3 的光纤耦合输出. 三个激光管的分时操作由计算机控制的射频开关(RF Switch) 实现,每一时刻只有一种波长的高频调制激光通过光纤传导到待测组织. 一定距离外的光子密度波由直径 $\phi = 3$ mm 的光纤采集到光电倍增管(PMT) 转化成为电信号. 从光电倍增管产生的微弱信号首先通过一个低噪声射频前置放大器(LNA) 进行放大,再通过一个带通滤波器(BPF) 除去信号中的谐波成分后加载到 I&Q 解调器的射频输入端(RF). I&Q 正交解调器的输出信号 I 和 Q 经过低通滤波器(LPF) 滤掉高频分量,即可得到携带振幅和相位差信息的直流分量. 通过数据采集卡送入计算机进行解算.

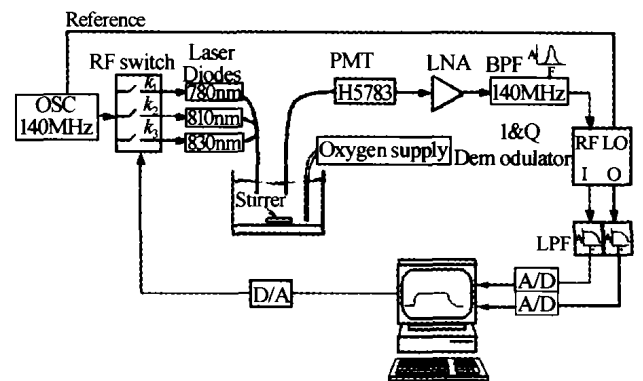


图 2 三波长内差式频域系统
Fig. 2 Instrument diagram and experimental setup for blood-yeast model experimental

3 实验与讨论

3.1 血液-酵母模型实验

在烧杯中预先配制好吸收系数 $\mu_a = 0.03 \text{ cm}^{-1}$ 、约化散射系数 $\mu_s' = 5 \text{ cm}^{-1}$ 的 Intralipid—墨水溶液 900 ml 作为标定本底^[12]。加入 15 g 酵母以消耗溶液中的氧气来,从而加速氧合血红蛋白的还原过程。加入无机盐溶液使模型溶液的渗透压与正常组织相同。实验过程在室温下进行。利用磁力搅拌器持续进行搅拌来保持溶液的均匀。仪器的光纤探头没入溶液中以满足其无限大边界条件。

首先向溶液中加入占其总体积 3% (9 ml) 的全血。搅拌均匀后,开始向溶液中注入氧气(流量: 500 cc/min)。溶液中的血红蛋白(Hb)逐渐与氧结合形成氧合血红蛋白(HbO_2),几分钟后溶液中的氧合血红蛋白浓度即可达到饱和状态,血氧饱和度(StO_2)接近于 100%。这时停止供氧,并开始输入氮气。在酵母的耗氧作用下,溶液中的氧合血红蛋白(HbO_2)逐渐与氧解离,转变为还原血红蛋白(Hb),血氧饱和度(StO_2)也随之下降至初始值。三个波长的吸收系数的变化过程以及相应的血氧饱和度的变化如图 3。血液-酵母模型的实验结果表明,该频域 NIRS 系统可以定量检测出多个波长的吸收系数的变化情况,并进一步求解得到组织血氧饱和度的动态变化过程。

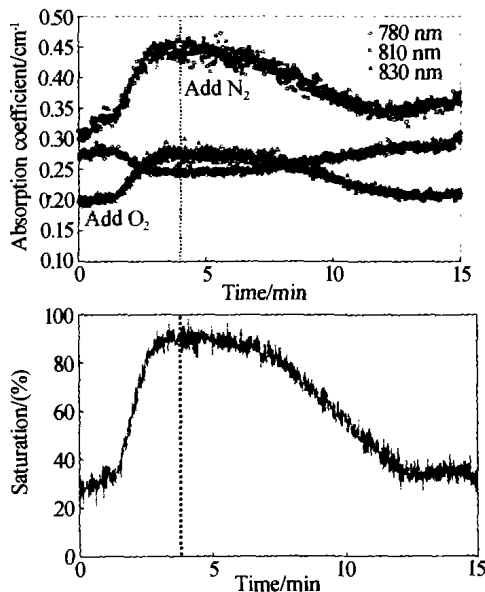


图 3 血液-酵母仿真模型实验

Fig. 3 Time traces of absorption coefficients and oxygen saturation of blood-yeast model experiment

3.2 前臂阻断实验

为了进一步验证该三波长频域近红外系统的活体测量结果。我们还进行了前臂动脉阻断实验。受试者为一成年男性。将光纤探头贴在前臂外侧肌肉

群表皮上,连接激光器的光纤直径为 1 mm,连接探测器的光纤束的直径为 3 mm。两个光纤之间的距离设置为 4 cm,可以探测到皮下大约 2 cm 范围内的肌肉组织氧饱和度的变化情况。

利用一个绑在上臂的血压计袖带来实现动脉阻断。实验开始后,迅速将袖带压力加至 250 mmHg,以阻断前臂的血液供应。随着前臂组织中氧气的消耗,局部组织氧饱和度逐渐从 60% 下降到 30% 左右。当解除阻断后,大量的新鲜血液补充到前臂,组织氧饱和度迅速上升,并出现一个补偿性的过冲峰值(70% 左右),然后回到正常状态(如图 4)。动脉阻断实验结果和 Hamaoka 等人利用时间分辨谱仪(Time-resolved Spectroscopy, TRS)所做的测量结果一致^[13]。

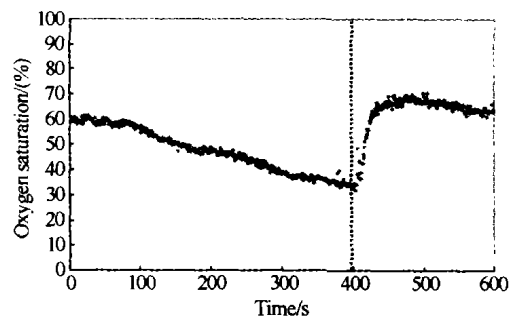


图 4 前臂动脉阻断实验

Fig. 4 Time trace of saturation during forearm arterial occlusion experiment

4 结论

实时定量测量组织的光学参数(特别是吸收系数)有助于了解组织内与代谢活动密切相关的血液动力学信息,对于临床诊断与研究都具有十分重要的意义。相对与时域方法,频域系统具有系统结构简单、成本低、便携性好的特点,从而也更具发展前景。

采用一对单间距光源和探测器,利用一个光学参数已知的模型进行校准,可以实现组织吸收系数 μ_a 和约化散射系数 μ_s' 的定量测量。系统采用三波长光源,通过定量测量不同波长下组织的吸收系数 μ_a ,依据修正后的 Beer-Lambert 定理可以反演出组织内氧合血红蛋白和还原血红蛋白的浓度及其血氧饱和度。血液仿真模型实验和人体前臂动脉阻断实验结果也验证了这一点。因此利用该系统可以实现局部组织(如脑、肌肉)氧饱和度的无创实时定量检测,将有很广泛的应用潜力。

感谢美国宾夕法尼亚大学医学院 B. Chance 博士对此项研究工作提供的帮助。

参考文献

- 1 Sevick E M, Chance B, Leigh J, et al. Quantitation of time-

- and frequency-resolved optical spectra for the determination of tissue oxygenation. *Anal Biochem*, 1991, **195**(2): 330 ~ 351
- 2 Hueber D M, Franceschini M A, Ma H Y, *et al.* Non-invasive and quantitative near-infrared haemoglobin spectrometry in the piglet brain during hypoxic stress, using a frequency-domain multidistance instrument. *Phys Med Biol*, 2001, **46**(1): 41 ~ 62
 - 3 Chen Y, Dharmesh R T, Intes X, *et al.* Correlation between near-infrared spectroscopy and magnetic resonance imaging of rat brain oxygenation modulation. *Phys Med Biol*, 2003, **48**(4): 417 ~ 427
 - 4 赵军, 丁海曙, 周丛乐. 近红外光谱技术在大脑研究中的应用. 世界医疗器械, 2002, **8**(10): 64
Zhao J, Ding H S, Zhou C L. *International Medical Devices*, 2002, **8**(10): 64
 - 5 Durduran T, Choe R, Culver J P, *et al.* Bulk optical properties of healthy female breast tissue. *Phys Med Biol*, 2002, **47**(16): 2847 ~ 2861
 - 6 Hebden J C, Gibson A, Yusof R M, *et al.* Three-dimensional optical tomography of the premature infant brain. *Phys Med Biol*, 2002, **47**(23): 4155 ~ 4166
 - 7 Ntziachristos V, Ma X H, Chance B. Time-correlated single photon counting imager for simultaneous magnetic resonance and near-infrared mammography. *Rev Sci Instrum*, 1998, **69**(12): 4221 ~ 4233
 - 8 余江胜, 骆清铭, 阮玉. 时间分辨技术测量高散射介质光学参量. 光子学报, 2003, **32**(7): 860 ~ 863
Yu J S, Luo Q M, Ruan Y. *Acta Photonica Sinica*, 2003, **32**(7): 860 ~ 863
 - 9 Chance B, Cope M, Gratton E, *et al.* Phase measurement of light absorption and scatter in human tissue. *Rev Sci Instrum*, 1998, **69**(10): 3457 ~ 3481
 - 10 Fishkin J B, Gratton E. Propagation of photon-density waves in strongly scattering media containing an absorbing semi-infinite plane bounded by a straight edge. *J Opt Soc Am A*, 1993, **10**(1): 127 ~ 140
 - 11 Yang Y S, Liu H L, Li X D, *et al.* Low cost frequency-domain photon migration instrument for tissue spectroscopy, oximetry, and imaging. *Opt Eng*, 1997, **36**(5): 1562 ~ 1569
 - 12 Van Staveren H J, Moes C J M, Van Marle J, *et al.* Light scattering in intralipid-10% in the range of 400 ~ 1100 nm. *Appl Opt*, 1991, **30**(31): 4507
 - 13 Hamaoka T, Katsumura T, Murase N, *et al.* Quantification of ischemic muscle deoxygenation by near infrared time-resolved spectroscopy. *J Biomed Optics*, 2000, **5**(1): 102 ~ 105

Quantitative Determination of the Tissue Oxygen Saturation Using Frequency-domain Near-infrared Spectroscopy

Zhao Jun, Ding Haishu, Teng Yichao

Department of Biomedical Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084

Received date: 2004-02-09

Abstract A three-wavelength frequency-domain photon migration spectroscopy instrument using in-phase and quadrature (I&Q) demodulation technique in a 140-MHz homodyne system was described here. A calibration procedure was employed to qualify absorption coefficient and reduced scattering coefficient with single source-detector separation. The performance of the frequency-domain NIRS to quantify blood oxygen saturation and the concentration of oxy- and deoxy-hemoglobin is examined with experimental measurements on a yeast-blood model. The results of the forearm arterial occlusion experiment was in good agreement with those measured by the Time-resolved Spectroscopy.

Keywords Near infrared spectroscopy (NIRS); Photon density wave; Absorption coefficient; Tissue oxygen saturation

Zhao Jun was born in September, 1973. He received his B. S. degree in Department of Automation, Shenyang Institute of Technology in 1995. Then he worked on the simulation of the photon migration through the tissues using Monte Carlo and Finite Element Method and obtained his M. S. degree in 1998. He enrolled as a candidate of Ph. D. student to continue his NIRS study in the Department of Biomedical Engineering, Tsinghua University in 2000. He worked as a visitor scholar in the lab of Dr. Chance, University of Pennsylvania from 2002 to 2003. His research focuses on bio-photonics, the frequency-domain NIRS and imaging, brain injury of new born infant and cancer detection.