

近红外光谱光纤探头的创新设计 用于骨关节炎的原位检测

符娟娟, 唐金兰, 包一麟, 尚慧, 吴进锦, 王潇, 尹建华*

(南京航空航天大学自动化学院生物医学工程系, 江苏南京 211106)

摘要: 创新设计了一款操作灵活、方便、适于生物医学原位检测的反射式近红外(NIR)光纤探头, 通过将自聚焦透镜耦合到 NIR 光纤探头的顶端, 并对探头结构、光纤排布进行全新设计, 使光纤探头具有更高的测量精度和收集效率。通过耦合傅里叶变换近红外光谱仪对蔗糖样本进行 NIR 光谱采集, 发现该反射式 NIR 光纤探头具有高效便捷的特点以及较高的光谱重复性和信噪比。采用该光纤探头对犬膝关节股骨端关节软骨进行 NIR 光谱原位检测, 这些光谱数据经一阶导数 2 次多项式 21 点 Savitzky-Golay 平滑预处理后再进行主成分分析和 Fisher 判别分析。模型初始案例和交互验证案例正确识别率分别为 97.62%、90.47%, 样本预测集的正确识别率达 96.43%, 证明了采用该 NIR 光纤探头进行 NIR 光谱原位检测的有效性及其对骨关节炎识别的可行性, 可为骨关节炎的临床诊断奠定实验基础。

关键词: 自聚焦透镜; 反射式近红外光纤探头; 骨关节炎; 近红外光谱; 主成分分析-Fisher 判别

中图分类号: 0433

Novel design of a NIR fiber optic probe for in situ detection of osteoarthritis

FU Juan-Juan, TANG Jin-Lan, BAO Yi-Lin, SHANG Hui, WU Jin-Jin, WANG Xiao, YIN Jian-Hua*

(Department of Biomedical Engineering, Nanjing University of Aeronautics and Astronautics,
Nanjing 211106, China)

Abstract: An innovative reflective near-infrared (NIR) fiber probe with flexibility and convenience was designed for biomedical in-situ detection. When the brand-new fiber probe structure and fiber arrangement were designed, further, a gradient-index (grin) lens was coupled to the top of the reflective NIR fiber bundles to make it have higher measurement accuracy and collection efficiency. When measuring NIR spectra of sucrose samples by coupling the grin NIR fiber probe to Fourier transform near infrared spectrometer, it was found that the grin NIR fiber probe had the advantages of convenience, high efficiency and spectral repeatability and SNR. The NIR spectra of articular cartilage at the femoral end of the canine knee joint were measured in situ by the grin NIR fiber probe and were preprocessed by first-derivative quadratic polynomials 21-point Savitzky-Golay smoothing for principal component analysis and Fisher discrimination analysis (PCA-FDA). The correct recognition accuracies of PCA-FDA model in initial cases and cross validation cases were 97.62% and 90.47%, respectively, as well as 96.43% for the prediction set, which confirms the effectiveness of NIR fiber probe detection in situ and the feasibility of osteoarthritis recognition and lays the foundation for basic research and early clinical diagnosis of osteoarthritis.

Key words: gradient-index lens, reflective near-infrared (NIR) fiber probe, osteoarthritis, near-infrared (NIR) spectra, principal component analysis and Fisher discrimination analysis (PCA-FDA)

引言

关节软骨是覆盖于骨关节表面的半透明、光滑

的结缔组织, 具有弹性和韧性, 能减少关节面间的摩擦、承受高负荷和缓冲震动^[1]。关节软骨主要由

收稿日期: 2020-11-09, 修回日期: 2021-03-15

Received date: 2020-11-09, Revised date: 2021-03-15

基金项目: 国家自然科学基金(61378087), 江苏省自然科学基金(BK20151478)

Foundation items: Supported by National Natural Science Foundation of China (61378087), Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK20151478)

作者简介(Biography): 符娟娟(1994-), 女, 河南周口人, 硕士研究生, 主要研究领域为生物医学光谱学及成像。E-mail: 15951993619@163.com

*通讯作者(Corresponding author): E-mail: yin@nuaa.edu.cn

软骨细胞(占总体积的1%~2%)和软骨基质(占总体积的98%~99%)组成。基质中主要含有水、胶原蛋白(Collagen)、蛋白多糖(PG)和少量无机盐离子^[2],其中胶原蛋白排列成网架结构,维持软骨的结构和形状,并能有效固定PG^[3],而PG可以保证关节软骨的弹性和耐压性。肥胖、增龄、负伤和过度使用等因素都可能会导致关节软骨整体结构和成分含量的变化,从而导致骨关节炎(OA)。OA的初级病变主要表现在细胞外基质成分含量和软骨细胞形态的变化,在临床上的表现并不明显,且现有的临床方法和实验方法并不能较准确地识别OA的早期病变^[4-7],这对OA的早期诊断造成极大困难。

傅里叶变换近红外(FTNIR)光谱技术近年来因其分析速度快、成本低、易于穿透组织并含有对应组织成分信息等特点而发展应用较为迅速,已被用于手术导航、无损检测和疾病诊断等各个领域。近红外(NIR)光谱范围内的光谱吸收主要来自X-H键伸缩振动的合频和倍频(X为O、C、N和S等),不同的基团或是同一基团在不同的化学环境中的NIR吸收的波长和强度存在差异^[8]。关节软骨基质成分中的Collagen和PG中含有NIR可探测的X-H键,这使得NIR光谱学成为探测关节软骨微观和宏观变化合适的光学技术^[9-10]。

光纤一般包括3层:中心是高折射率玻璃芯(纤芯)、中间为低折射率硅玻璃包层、最外层是树脂涂层,它具有柔性光导、热稳定性、对电磁干扰不敏感、传输信号能量集中、价格低廉等特点。基于光纤构造的NIR探头结构简单、使用灵活,是光谱仪的有效补充配件,备受各行业的青睐。而漫反射式NIR光纤探头可以用来测量多种类型样本(如:较厚、不透明样本),并适用于医疗环境中的生物组织进行异常或疾病诊断^[11]。然而,由于NIR信号相对较弱以及组织内漫反射路径的香蕉型特征,现有的NIR光纤探头探测端的直径通常较大及光纤数目较多^[12-13],在对复杂形貌特征样本的微区测量中,由于大直径探测端与样本无法全方位接触,使测得的光谱质量受到影响;同时光纤数目也影响了制作的成本和难度系数。另一方面,也因为NIR光谱自身信号弱,且关节软骨样本自身透明度高造成反射衰减,而后经出射光纤传输后能量损失导致信号更弱,所以亟需设计一种获取光谱信号更优的反射式NIR光纤探头。自聚焦透镜是一种折射率沿径向渐变分布的柱状透镜,具有准直、聚焦和成像等特性,

在集成光学领域应用广泛^[14]。采用光纤束耦合自聚焦透镜的方法则可使照射样品上的漫反射光有效收集、准直、减少能量在光纤传输过程中的损耗,进而可提高光纤探头的收集效率^[14-15]。

主成分分析(PCA)是一种通过降维技术从多个原始数据提取重要信息的分析方法。为了尽量减少变量和研究对象数据信息的损失,多选取累计贡献率达85%以上主因子作为主成分分析^[16]。Fisher判别(FDA)是通过方差分析建立判别函数,FDA的原则是使类别间的分散尽可能大,类别内的分散尽可能小。通过比较分类中心和样本之间的距离,快速对数据集进行分类识别^[17]。关节软骨主成分Collagen、PG和水的特征谱带在6 000~4 000 cm^{-1} 范围内^[18],将此波段的光谱进行分析并与化学计量学算法相结合有利于实现样本的快速分类和识别^[19]。

目前国内外采用NIR光谱技术对OA病变诊断的研究鲜有报道,且多采用NIR光纤探头对关节软骨的厚度以及功能特性进行研究^[19-20]。采用NIR光谱技术对OA识别的研究,也仅是通过某种成分含量的变化实现软骨样本的间接分类^[21]。本实验室前期已实现基于NIR光谱分析技术结合PCA-FDA的关节软骨切片和OA识别的基础研究^[22],因此本研究拟设计一种获取光谱信号更优的反射式NIR光纤探头,与NIR光谱仪联用,并通过联用机器学习PCA-FDA的方法直接对健康和病变关节软骨样本进行原位分析和诊断,同时也为其它病变的原位诊断提供借鉴和有效技术方法。

1 实验与方法

1.1 样品

用于NIR光谱分析的比格犬的膝关节样本,均由江苏南京亚东实验动物研究中心提供,并经伦理审查机构批准。选择8只健康比格犬,对其中编号Y1、Y2、Y3的犬左后腿膝关节股骨端进行原位提取,获取3只健康样本;对编号Y4、Y5、Y6、Y7、Y8的犬进行任一单后腿的膝关节前交叉韧带横切(ACL)手术后^[23],培养3~7个月,再从相应手术侧的后腿膝提取关节股骨,即获得5只股骨OA样本。蔗糖(分析纯)购自天津市科密欧化学试剂有限公司。

1.2 NIR光纤探头设计

探头探测端的设计是整个光纤探头设计的核心,该探头采用分叉光纤束检测NIR光谱,包括6根出射光纤和13根入射光纤且参数相同(近红外光优化石英光纤FIP300330370:芯径300 μm 、包层直径

330 μm 、涂覆层直径 370 μm ，数值孔径 NA 为 0.22 \pm 0.02)。具体结构如图 1 所示：顶端光纤束按固定排列的方式合并在一起，且自聚焦透镜与顶端光纤束耦合，从而构成反射式 NIR 光纤探头的探测端，具体如图 2(a)所示；出射光纤与入射光纤分成两束，其中 6 根出射光纤合并在一起，围成一个圆形，且相邻的两根出射光纤之间相互接触。合并后的末端端面排列如图 2(b)所示，并由第三光纤保护套包裹，且末端连接出射光纤跳线；13 根入射光纤合并在一起后包括三层，其末端端面排列如图 2(c)所示，并由第二光纤保护套包裹，且末端连接入射光纤跳线。自设计 NIR 光纤探头的外径为 2.5 mm，窗口直径为 2 mm。

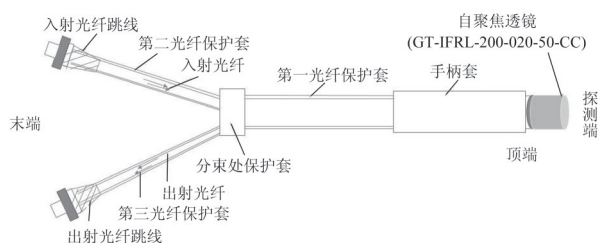


图 1 NIR 光纤探头的整体结构示意图

Fig. 1 Overall structure diagram of NIR fiber probe

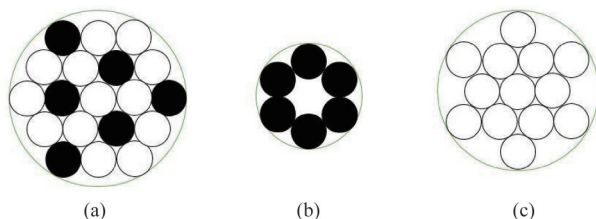


图 2 (a) 出射光纤与入射光纤顶端的端面示意图, (b) 6 根出射光纤的末端端面排布示意图, (c) 13 根入射光纤末端端面排布示意图

Fig. 2 (a) Schematic diagrams of the top end of the exit and entrance optical fibers, (b) the end face arrangement of 6 exit optical fibers, (c) the end face arrangement of 13 incident optical fibers

分束处保护套设置在出射光纤与入射光纤分开与合并的过渡区, 以避免操作过程中纤芯折断, 分束后的光纤束均由光纤保护套包裹。手柄套包裹在自聚焦透镜上, 防止自聚焦透镜损坏且手柄套的材质为不锈钢材料, 降低了探测端的光源能量损失。光纤跳线通过 SMA905 接口与装置的光纤连接器相连, 便于光纤探头的拆卸。以上探头设计已获专利授权^[24]。

仿真环节是基于 ZEMAX 光学软件中混合模式

建立仿真模型, 选用的自聚焦透镜同实际组件, 直径为 2 mm。为方便模型的建立, 在保证重要参数的情况下对模型进行简化, 综合考虑, 对参数进行如下设置: 总光源能量 6 W, 波长 1550 nm, 分析光线数 20 万; 光纤长度 1 cm, 在光纤出射端 0.01 mm 处放一与纤芯直径等边长的矩形探测器。分别按照空间坐标在出射光纤的位置放置光纤模型, 统计 6 根出射光纤出射端的总能量, 即是反映光纤探头仿真收集效率的参数。

1.3 NIR 光谱数据采集及处理

将所设计的 NIR 光纤探头通过自制的固定耦合设备^[25]与 FTNIR 光谱仪 (Vertex 70, 德国 Bruker 公司) 联用, 实现光纤探头和光谱仪的高效耦合, 以及光纤探头入射端和出射端的固定, 如图 3 所示。NIR 光经入射光纤 (入射端) 传输至光纤探头的探测端, 并将携带样本信息的光经出射光纤 (出射端) 传输至检测器, 从而获得样本的 NIR 光谱图。以漫反射白板 (复享光学公司 STD-WS 系列, 反射率 > 98%) 为背景, 对样品 (蔗糖粉末、股骨) 进行光纤探头 FTNIR 原位光谱采集。每个股骨样本随机选择 14 点进行光谱采集 (无需任何预处理)。作为对照检验, 选择溴化钾 (KBr) 压片法来获取蔗糖的常规透射 FTNIR 光谱。100 mg KBr 充分研磨后制成透明压片, 并以此为测量背景, 对 6 mg 蔗糖混合 100 mg KBr 充分研磨后制成的质量浓度为 5.66% 透明压片进行常规透射 FTNIR 光谱采集。常规透射 FTNIR 光谱和 (自聚焦) 光纤-FTNIR 光谱采集在系统自带的 OPUS 7.0 软件中进行, 光谱采集范围 8 000~4 000 cm^{-1} , 光谱分辨率 16 cm^{-1} , 扫描 64 次。

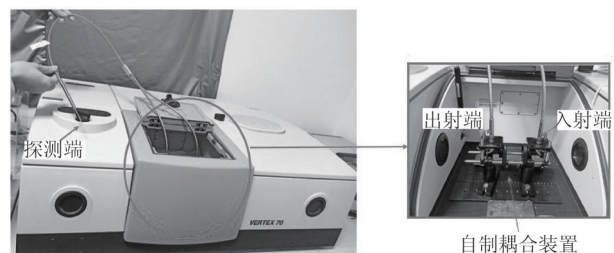


图 3 NIR 光纤探头联用 FTNIR 系统装置图

Fig. 3 Setting photo of NIR fiber probe coupled with FTNIR system

光谱的信噪比 (S/N) 评估和预处理 (基线校正 (BC)、一阶导数 2 次多项式 21 点 Savitzky-Golay 平滑 (1st-2-21SG)、二阶导数 3 次多项式 25 点 Savitzky-Golay 平滑 (2nd-3-25SG))^[23] 分别采用 OPUS 7.0

软件和 Unscrambler X 软件(CAMO Software, Inc., Woodbridge, NJ)进行。使用 IBM SPSS Statistics 20 软件对光谱数据进行 PCA,再选择适当主成分因子数进行 FDA,对样本进行准确识别。在本研究中,训练集由 84 条光谱组成(随机选择 2 个健康样本 28 条光谱、4 个 OA 样本 56 条光谱),剩余的 28 条光谱(健康和 OA 样本各一个)作为预测集。

2 结果

2.1 NIR 光纤探头仿真

与文献报到的已有探头^[26]相比,本设计采用的光纤数目较少,节约成本;出射光纤数目相对较多,可收集更多反射信号使出射端能量更多。相较于相同光纤排列无透镜耦合的探头,光纤束顶端耦合透镜使探头出射光纤出射端能量大幅增加,增强效果(功率)近 50 倍^[24]。在本文的光谱仪上进行皮肤样本的 NIR 光谱检测,以对有无自聚焦透镜耦合的 2 种 NIR 光纤探头进行比较实验验证。结果表现为自聚焦透镜光纤探头的漫反射率(漫反射强度)相对提高近 10 倍,且光谱平滑度高,有效降低了杂散光的干扰。因此,本设计可有效提高光与组织作用效率和对反射光的收集效率,可使探头更高效地采集样品信息。

自聚焦透镜与光纤束顶端的距离也是影响信号收集效率的一个因素,所以须做进一步的仿真。表 1 分别是纤芯直径 0.2 mm,涂覆层直径 0.32 mm;纤芯直径 0.2,涂覆层直径 0.245 mm 和纤芯直径 0.3 mm,涂覆层直径 0.52 mm 光纤束顶端与自聚焦透镜距离 0、2、5 mm 的仿真结果。从表 1 中发现,当芯径和涂覆层直径分别为 0.2 mm、0.32 mm,光纤束顶端与自聚焦透镜的距离为 0、2、5 mm 时,6 根出射光纤出射端的总能量分别为 0.533 W、0.285 W

和 0.011 W;当芯径和涂覆层直径分别为 0.2 mm、0.245 mm,光纤束顶端与自聚焦透镜的距离为 0、2、5 mm 时,6 根出射光纤出射端的总能量分别为 0.566 W、0.294 W 和 0.012 W,当芯径和涂覆层直径分别为 0.3 mm、0.52 mm,光纤束顶端与自聚焦透镜的距离为 0、2、5 mm 时,6 根出射光纤出射端的总能量分别为 0.733 W、0.552 W 和 0.103 W。

从表 1 中的结果可得到:当芯径和涂覆层直径固定时,光纤束顶端与自聚焦透镜距离越远,则出射光纤出射端收集的总能量越低,距离为 0 mm 时收集的总能量最高;纤芯直径为 0.3 mm 时的收集能量最高,主要原因是纤芯直径大,光纤损耗小,传输的能量多;当纤芯直径为 0.2 mm,光纤束与自聚焦透镜的距离为 0 mm,涂覆层直径为 0.32 mm、0.245 mm 时,6 根出射光纤出射端的总能量分别为 0.533 W、0.566 W。所以当纤芯直径相同、光纤束与自聚焦透镜的距离也相同时,涂覆层直径越小则总能量越高。

综上所述,在 NIR 光纤探头直径允许的情况下,纤芯直径为 0.3 mm 时,涂覆层直径越小,光纤探头中自聚焦透镜与光纤束贴合时出射光纤收集能量最高,即收集效率最高,此结果可以作为 NIR 光纤探头光纤参数选择的依据。

2.2 光谱评估

图 4(a)所示分别为蔗糖粉末的常规透射 FT-NIR 光谱和光纤-FTNIR 光谱,图 4(b)为蔗糖粉末相同位置重复测量的光纤-FTNIR 光谱。通过图 4(a)的两光谱对比发现,二者的主吸收峰峰位完全对应,且光纤-FTNIR 光谱中 $7\ 500\sim 5\ 500\ \text{cm}^{-1}$ 吸光度值远高于透射光谱。这种现象主要是由于反射模式下样本的反射较强,可收集更多光强信息;另一方面也归因于在透射模式下测试光程短且压片法

表 1 光纤束顶端与自聚焦透镜不同距离的仿真结果

Table 1 The simulation results of gradient-index (grin) lens with different distances to the top of fiber bundle

| 纤芯直径/mm | 涂覆层直径/mm | 光纤束与自聚焦透镜的距离/mm | 6根出射光纤出射端的总能量/W |
|---------|----------|-----------------|-----------------|
| 0.2 | 0.32 | 0 | 0.533 |
| 0.2 | 0.32 | 2 | 0.285 |
| 0.2 | 0.32 | 5 | 0.011 |
| 0.2 | 0.245 | 0 | 0.566 |
| 0.2 | 0.245 | 2 | 0.294 |
| 0.2 | 0.245 | 5 | 0.012 |
| 0.3 | 0.52 | 0 | 0.733 |
| 0.3 | 0.52 | 2 | 0.552 |
| 0.3 | 0.52 | 5 | 0.103 |

所制的被测样本的浓度较小(5.66%)。相较于常规透射模式,蔗糖粉末原位测量的反射光谱仅在8 000~7 500 cm^{-1} 波段存在少量噪声。

由图4(a)两条光谱计算可知,蔗糖粉末样本的常规透射FTNIR光谱和光纤-FTNIR光谱的均方根信噪比分别为73.133、70.781。高信噪比是透射模式特有的优点,而蔗糖样本的光纤-FTNIR光谱和常规透射FTNIR光谱具有很接近的信噪比,表明该探头具有高信噪比和平滑度的优点。图4(b)为NIR

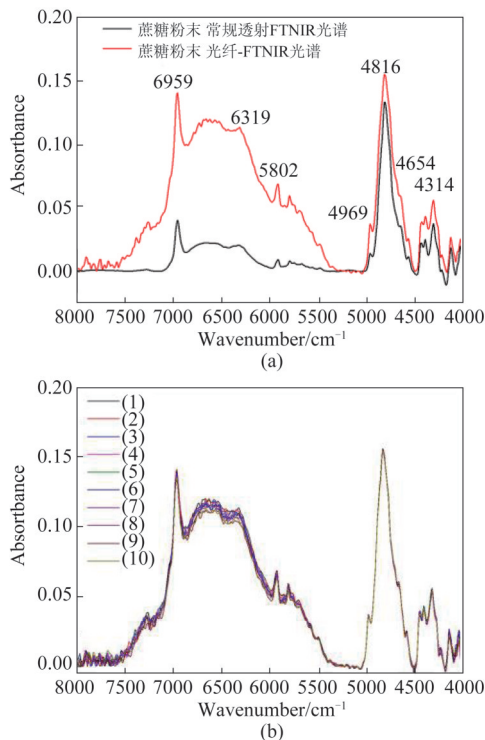


图4 (a)蔗糖粉末的常规透射FTNIR光谱和光纤-FTNIR光谱,(b)蔗糖(粉末)相同位置经10次重复测量的光纤-FTNIR光谱

Fig. 4 (a) Conventional transmission FTNIR spectra and optical fiber - FTNIR spectra of sucrose powder, (b) optical fiber - FTNIR spectra of sucrose powder by 10-time repeated measurement at same position

表2 关节软骨NIR光谱特征带与主成分官能团的对应关系^[18]

Table 2 The relationships between NIR spectral characteristic bands and main components, functional groups of articular cartilage ^[18]

| 主成分 | 波数/ cm^{-1} | 官能团 |
|---------|----------------------|-----------------------------|
| 胶原蛋白 | 4 890 | N-H 面内弯曲振动 |
| 胶原蛋白 | 4 610 | C-H 反对称伸缩振动和变形振动 |
| 胶原蛋白 | 4 050 | 蛋白分子的C-H组合和C-H-C对称伸缩振动的一级倍频 |
| 多糖 | 4 310 | C-H伸缩振动和 CH_2 变形振动 |
| 自由水 | 6 890 | N-H、水伸缩振动的一级倍频和C=O伸缩振动的三级倍频 |
| 自由水和结合水 | 5 150 | O-H的伸缩振动和变形震动 |

光纤探头在同一位置连续检测10次蔗糖粉末样本且经BC预处理后的光谱图,发现每个波数和相应的吸收峰之间都非常一致,表明本探头具有很高的光谱重复性^[25]。

综上所述,通过对蔗糖样本的常规透射FTNIR光谱和光纤-FTNIR光谱对比,及探头重复性的分析实验,证实了NIR光纤探头检测无需样本预处理即可获得全面充分的光谱信息且光谱稳定、可重复性较高的优点、适用于样本的原位检测。

2.3 关节软骨原位NIR光谱分析

2.3.1 软骨NIR光谱的特征

图5(a-b)分别是经BC和2nd-3-25SG后的健康和OA样本的NIR吸收平均光谱图,可发现,健康和OA样本的NIR光谱谱形基本相似且具有相同的特征峰,在6 890 cm^{-1} 和5 200 cm^{-1} 附近具有宽而强烈的峰(图5(a)),在4 300~5 000 cm^{-1} 之间有较小的峰值。图5(b)中5 285 cm^{-1} 和7 100 cm^{-1} 处具有很高的二阶导数光谱值,4 374、4 605 cm^{-1} 附近可观察到较低的二阶导数光谱值(取绝对值),说明4 374、4 605 cm^{-1} 为原光谱的肩峰。关节软骨的NIR光谱特征峰的分配具体的对应关系如表2所示:5 150 cm^{-1} 的谱带归因于“游离”水和结合水的结合,6 890 cm^{-1} 光谱区的吸收峰归因于游离水;4 050、4 610和4 898 cm^{-1} 带被报道主要来自胶原蛋白^[18]。图5(b)的OA组中4 590 cm^{-1} 和4 302 cm^{-1} 特征峰与健康组中4 605 cm^{-1} 和4 374 cm^{-1} 相比,均发生红移现象,这可能是由于软骨病变其成分含量的变化引起的。由于NIR光谱的吸收带多是X-H基团振动的重叠,比较复杂,不像MIR特征带分配定义较为清晰,易于分析。所以,仍需将NIR光谱结合化学计量学方法进行进一步的定性研究。

2.3.2 PCA-FDA

经1st-2-21SG预处理后的NIR光谱经PCA降维,随着因子数的增加,样本的正确识别率上升,本

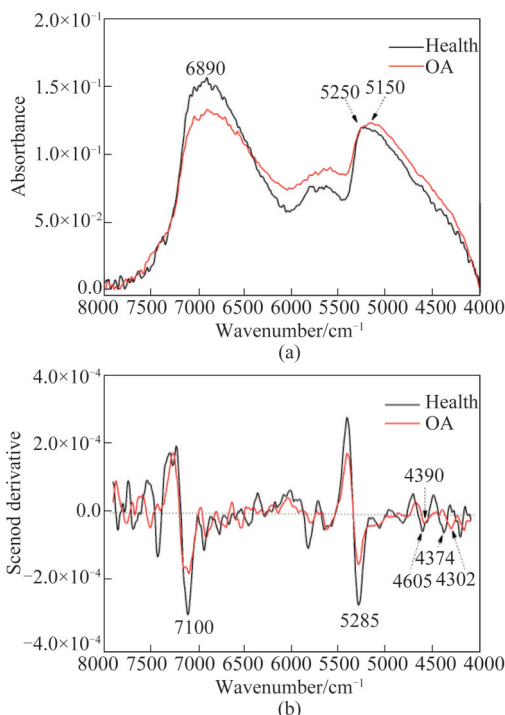


图5 基线校正(BC)(a)和二阶导数(2nd-3-25SG)(b)预处理后的关节软骨(健康和OA样本)原位NIR平均光谱

Fig. 5 Average in-situ NIR spectra of articular cartilage (Health and OA tissues) BC (a) and second derivative (2nd-3-25SG) (b)

研究选择前24个主成分因子(累计贡献为90%)进行FDA处理,所得判别结果如表3所示。

表3 健康和OA样本的原位NIR光谱经1st-2-21SG预处理后的PCA-FDA的结果

Table 3 FDA results of in-situ NIR spectra of healthy and OA tissues after 1st-2-21SG pretreatment

| | 类别 | 判别结果 | | 识别率 | 识别率(总) |
|------|----|------|----|--------|--------|
| | | 健康 | OA | | |
| 初始案例 | 健康 | 27 | 1 | 96.43% | 97.62% |
| | OA | 1 | 55 | 98.21% | |
| 交叉验证 | 健康 | 25 | 3 | 89.29% | 90.47% |
| | OA | 5 | 51 | 91.07% | |
| 预测集 | 健康 | 14 | 0 | 100% | 96.43% |
| | OA | 1 | 13 | 92.86% | |

从表3知,经1st-2-21SG预处理后初始案例的健康和OA样本的总体识别率为97.62%;交叉案例的健康和OA样本的整体识别率为90.47%。对预测集健康和OA样本的整体识别率为96.43%。OA组个别样本点在交叉验证中被误判到健康组,误判的原因可能是由于在OA造模后该测量部位无明显

的损伤,该部位基质成分也并未出现明显的变化;在交叉验证的结果中健康组3个点被误判到OA组中,可能是由于个体差异的影响,此部位基质成分含量发生了少量变化导致的。预测集中OA样本中的1个点被误判到健康组中,原因可能是由于个体差异的影响,即该部位并未发生病变。

FDA过程中,出现的参数Wilk's Lambda是组内的平方和与总平方的比,范围从0到1。Wilk's Lambda值越低,说明类间差异就越大^[27]。sig.为显著性水平假设检验,sig.值小于0.05,说明函数判别显著。本研究中,样本原位NIR原位光谱数据经1st-2-21SG预处理后,PCA-FDA显著性检验结果中Wilk's lambda和sig.值分别为0.213和0.000,这表明NIR光谱数据经1st-2-21SG预处理后对健康和OA组织的分类具有很好的辨别能力,可为OA识别提供新的技术手段和数据支持。

3 结论

本文通过优化光纤束排列并耦合自聚焦透镜创新设计了一款操作灵活、方便、适于生物医学原位检测的反射式NIR光纤探头,可以更高效地收集样品信息、获得高质量的NIR光谱。较小的探测端直径有利于本探头实现NIR原位微区测量。比较蔗糖样本透、反射的NIR光谱,发现该探头在对目标组织的光谱测量中具有足够的可靠性和可重复性。本探头与FTNIR光谱仪联用对离体关节软骨进行原位光谱检测,经1st-2-21SG预处理后结合PCA-FDA方法,使模型初始案例、交互验证案例和预测集的识别率分别达到97.62%、90.47%、96.43%。这一结果和我们采用中红外空芯光纤衰减全反射探头结合红外光谱仪及PCA-FDA方法^[28]获得的结果相接近,进一步证明了本NIR光纤探头对OA识别的准确性和可行性,可为OA的临床诊断及应用基础性研究奠定基础,在临床医学、生物学、工程学等诸多领域有着广阔的发展前景。

References

- [1] Soltz M A, Wang C C, Wong D D, et al. Functional tissue engineering of articular cartilage through dynamic loading of chondrocyte-seeded agarose gels [J]. *Journal of Biomechanical Engineering*, 2000, **122**(3): 252-260.
- [2] Kuettner K E. Biochemistry of articular cartilage in health and disease [J]. *Clinical Biochemistry*, 1992, **25**(3): 155-63.
- [3] Buckwalter J A, Mankin H J. Articular cartilage: tissue design and chondrocyte-matrix interactions [J]. *Instructional Course Lectures*, 1998, **47**(4): 477-486.

- [4] Wilson W, Huyghe C J M. Depth-dependent compressive equilibrium properties of articular cartilage explained by its composition [J]. *Biomechanics & Modeling in Mechanobiology*, 2007, **6**(1-2): 43-53.
- [5] Chen S S, Falcovitz Y H, Schneiderman R, et al. Depth-dependent compressive properties of normal aged human femoral head articular cartilage: relationship to fixed charge density [J]. *Osteoarthritis and Cartilage*, 2001, **9**(6): 561-569.
- [6] Xia Y, Alhadlaq H, Ramakrishnan N, et al. Molecular and morphological adaptations in compressed articular cartilage by polarized light microscopy and Fourier-transform infrared imaging [J]. *Journal of Structural Biology*, 2008, **164**(1): 0-95.
- [7] Tan A, Mitra A, Chang P, et al. Assessment of blood-induced cartilage damage in rabbit knees using scanning electron microscopy [J]. *Journal of Orthopaedic Surgery*, 2004, **12**(2): 199-204.
- [8] Kennedy J F, Thomas J B, Svoronos P D N. CRC handbook of fundamental spectroscopic correlation charts [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2007, **67**(4): 648-648.
- [9] CHEN Yan-Ping, LI Chun-Bin, WANG Xiao-Ling, et al. Detection of knee osteoarthritis with near infrared spectroscopy in vivo [J]. *Journal of Optoelectronics·Laser* (陈延平, 李纯彬, 王晓玲, 等. 膝骨性关节炎的在体近红外光谱检测. *光电子·激光*) 2014, **25**(05): 1023-1026.
- [10] Brown C P, Jayadev C, Glyn-Jones S, et al. Characterization of early stage cartilage degradation using diffuse reflectance near infrared spectroscopy [J]. *Physics in Medicine & Biology*, 2011, **56**(7): 2299-2307.
- [11] CHU Xiao-Li. *Molecular spectroscopy analytical technology combined with chemometrics and its applications* [M]. Beijing: Chemical Industry Press (褚小立. *化学计量学方法与分子光谱分析技术*. 北京: 化学工业出版社), 2011: 281-283.
- [12] Sarin J K, Te Moller N C R, Mancini I A D, et al. Arthroscopic near infrared spectroscopy enables simultaneous quantitative evaluation of articular cartilage and subchondral bone in vivo [J]. *Scientific Reports*, 2018, **8**(1): 13409.
- [13] Afara I O, Prasadam I, Crawford R, et al. Near infrared (NIR) absorption spectra correlates with subchondral bone micro-CT parameters in osteoarthritic rat models [J]. *Bone*, 2013, **53**(2): 350-357.
- [14] TAN Jiu-Bin, ZHANG Jie. Recent research activities and trend of grin lens and its application [J]. *Journal of Optoelectronics·Laser* (谭久彬, 张杰. 自聚焦透镜在传感应用中的研究进展. *光电子·激光*), 2001, **12**(09): 108-112.
- [15] ZHANG Qiang. Application of GRIN lens in optical fiber coupling system [D]. (张强. 梯度折射率透镜在光纤耦合系统中的应用). 西安电子科技大学, 2008.
- [16] Rusak D A, Brown L M, Martin S D. Classification of vegetable oils by principal component analysis of FTIR spectra [J]. *Journal of Chemical Education*, 2003, **80**(5): 541-543.
- [17] Chiang L H, Russell E L, Braatz R D. Fault diagnosis in chemical processes using Fisher discriminant analysis, discriminant partial least squares, and principal component analysis [J]. *Chemometrics & Intelligent Laboratory Systems*, 2000, **50**(2): 243-252.
- [18] Padalkar M V, Spencer R G, Pleshko N. Near infrared spectroscopic evaluation of water in hyaline cartilage [J]. *Annals of Biomedical Engineering*, 2013, **41**(11): 2426-2436.
- [19] Sarin J K, Amis M, Brommer H, et al. Near infrared spectroscopic mapping of functional properties of equine articular cartilage [J]. *Annals of Biomedical Engineering*, 2016, **44**(11): 3335-3345.
- [20] Mcgooverin C M, Lewis K, Yang Xu, et al. The contribution of bone and cartilage to the near-infrared spectrum of osteochondral tissue [J]. *Applied Spectroscopy*, 2014, **68**(10): 1168-1175.
- [21] Afara I O, Prasadam I, Arabshahi Z, et al. Monitoring osteoarthritis progression using near infrared (NIR) spectroscopy [J]. *Scientific Reports*, 2017, **7**(1): 11463.
- [22] FU Juan-Juan, MA Dan-Ying, TANG Jin-LAN, et al. NIR spectroscopic study and staging diagnosis of osteoarthritic articular cartilage [J]. *Spectroscopy and spectral analysis* (符娟娟, 马丹英, 唐金兰, 等. 骨关节炎软骨的近红外光谱学研究及分期诊断. *光谱学与光谱分析* (已录用)).
- [23] ZHONG Ming-Jin, LIU Zhen-Long, ZHANG Ji-Ying. Early treadmill exercise has no harmful effect on articular cartilage in the rabbits after transection of anterior cruciate ligament [J]. *Chin J Sports Med* (钟名金, 刘振龙, 张继英, 等. 跑台运动对兔前交叉韧带断裂后膝关节软骨的影响. *中国运动医学杂志*), 2016, **35**(4): 38-45.
- [24] YIN Jian-Hua, FU Juan-juan, ZHAO Yuan, et al. Polyamide resins: CN Patent, CN211505205U [P]. 2020-09-15.
- [25] Zhao Y, Lu Y F, Zhu Y K, et al. Submillimetric FTIR detection of articular cartilage by home-made ATR-MIR-Hollow optical fiber probe [J]. *Infrared Physics and Technology*. 2019, **98**: 236-239.
- [26] GAO Jing, HAN Guang, LU Qi-Peng. Propagation of near-infrared light in skin tissue and the design of optical fiber detection structure [J]. *Acta Photonica Sinica* (高静, 韩光, 卢启鹏. 近红外光在皮肤组织中的传播和光纤探测结构设计. *光子学报*), 2018, **1**: 155-161.
- [27] Patel S, Bhavsar C D. Analysis of pharmacokinetic data by wilk's lambda (An important tool of manova) [J]. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*. 2013, **2**(1): 36-44.
- [28] Zhao Y, Ma D Y, Fu J J, et al. Preliminary study on discrimination of healthy and osteoarthritic articular cartilage of canine by hollow fiber attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy and Fisher's discriminant analysis [J]. *Vibrational Spectroscopy*, 2020, **109**: 103090.