

文章编号: 0258-7025(2004)03-0305-05

808 nm 近红外激光辐照三种不同的 离体人组织的光传输特性

魏华江¹, 邢 达^{1*}, 巫国勇², 谷怀民¹, 金 鹰¹

(¹ 华南师范大学激光生命科学研究所, 广东 广州 510631; ² 中山医科大学第一附属医院心胸外科, 广东 广州 510089)

摘要 采用双积分球系统和光辐射测量技术的基本原理以及运用生物组织的光学模型, 研究了 808 nm 激光及其线偏振激光辐照人正常小肠、人正常膀胱和人膀胱癌组织的光学特性。结果表明, Kubelka-Munk 二流模型下, 人正常膀胱组织与人膀胱癌组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的各个光学特性参量均有非常显著的差异 ($P < 0.01$)。人正常膀胱组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的光学特性参量均有差异, 其中吸收系数和有效衰减系数有明显差异。人膀胱癌组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的光学特性参量均没有显著性差异 ($P > 0.05$), 表明人膀胱癌组织对 808 nm 线偏振激光的退偏振较大。人正常小肠组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的光学特性参量均有显著性差异 ($P < 0.01$), 表明人正常小肠组织对 808 nm 线偏振激光的退偏振较小。在 Kubelka-Munk 二流模型下, 808 nm 激光及其线偏振激光辐照三种人组织的光强分布均有明显的不同。

关键词 激光技术; 光学特性; 小肠; 膀胱; 癌组织; 808 nm 激光; 双积分球系统

中图分类号 R 318.51 文献标识码 A

Optical Transport Characteristics of Human Tissues in Vitro at 808 nm Linearly Polarized Laser Irradiation

WEI Hua-jiang¹, XING Da¹, WU Guo-yong², GU Huai-min¹, JIN Ying¹

¹ Institute of Laser Life Science, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510631, China

² First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, Guangdong 510080, China

Abstract In this paper, a double-integrating-spheres system, basic principle of measuring technology of ray radiation, optical model of biological tissues were used to study the optical properties of human tissues. The results of measurement showed that the parameters of optical properties of human normal bladder and human bladder cancer tissue at 808 nm laser and the linearly polarized laser in Kubelka-Munk two-flux model had prominent distinction ($P < 0.01$). The parameters of optical properties of human normal bladder tissue for 808 nm laser and the linearly polarized laser had all distinction. Absorption coefficient and effective attenuation coefficient among all parameters of optical properties of human normal bladder tissue had obviously distinction. All parameters of optical properties of human bladder cancer tissue for 808 nm laser and the linearly polarized laser had not prominent distinction ($P > 0.05$) which showed that the depolarization of human bladder cancer tissue to 808 nm linearly polarized irradiation was very big. The parameters of optical properties of human normal small intestine tissue at 808 nm laser and the linearly polarized laser irradiation had all prominent distinction ($P < 0.01$), which showed that the depolarization of human normal small intestine tissue to 808 nm linearly polarized irradiation was smaller. Distribution of light intensity of three kinds of human tissues at 808 nm laser and the linearly polarized laser irradiation in Kubelka-Munk two-flux model had obviously dissimilitude.

Key words laser technique; optical properties; small intestine; bladder; cancer tissues; 808 nm laser; double integrating-sphere system

收稿日期: 2002-10-29; 收到修改稿日期: 2003-01-20

基金项目: 国家重大基础研究前期研究专项(2002CCC00400)和广东省自然科学基金团队项目(015012)资助课题。

作者简介: 魏华江(1961—), 男, 副教授, 研究方向为激光医学及组织光学。E-mail: wei hj5022@163.com

*通信联系人。E-mail: xingda@scnu.edu.cn

1 引 言

近红外光对生物组织具有较好的光学穿透能力且对不同生物组织具有不同的吸收峰的特点,近红外光谱诊断、近红外光学成像技术以及偏振成像技术、无损伤光学检测、光动力学疗法等作为光诊断方法在生物医学领域将具有潜在的、广阔的应用前景。而光诊断都必须以精确地获得生物组织的光学特性作为重要基础。光与生物组织相互作用时,光子可能被吸收和散射,线偏振光入射不同生物组织的退偏度是不同的,这些都与光的特性以及生物组织的成分和排列结构密切相关。有研究表明,线偏振光对生物组织的穿透深度比圆偏振光大,而用模拟的生物组织的实验结果却与上述结果相反^[1]。这是生物组织中的组织成分的排列结构与模拟的生物组织的成分和排列结构的不同而使偏振光的偏振信息发生改变所致。当光子与生物组织相互作用后,光子则带着与生物组织成分结构有关的信息^[2]。从组织光学的角度来看,生物组织可看作是一种光学混浊介质,生物体的生理特性变化或癌变等组织特性的变化都导致生物组织的光学特性参量的改变。从可见光到红外光(波长在 400~900 nm),它们对组织的穿透性随波长的增大而增加。因此,808 nm 激光对生物组织具有很好的穿透性,在光动力治疗(PDT)中,对生物组织具有较好穿透性的激光能应用于生物体内深部病灶的治疗。此外,采用线偏振光入射薄的生物组织可以减少光轴上透射光中的散射成分^[3],提高测量准直透射光的精确度且可探讨其对组织的光学特性。本实验采用双积分球系统和光辐射测量技术及光传输的理论模型,测量了人正常小肠、正常膀胱、膀胱癌组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的光学特性,并对实验结果进行了分析与讨论。

2 材料与方 法

2.1 样品的制备

实验用手术切除的人新鲜离体正常小肠、正常膀胱和膀胱癌活组织。样品取下即用生理盐水保存并置冰箱速冻冷藏,实验时才取出,从样品切除到实验完成的全过程控制在 4 h 内。制备方法是用生理盐水冲洗干净样品表面的血液等,剥去样品外侧的其他组织,小肠样品面积为 16.1 mm × 16.4 mm,厚度为 1.42 ± 0.16 mm。膀胱和膀胱癌样品面积均为 18.5 mm × 18.5 mm,膀胱样品厚度为 1.32 ±

0.05 mm,膀胱癌样品厚度为 2.10 ± 0.08 mm。自行设计和加工的样品夹是用不透光的黑色薄片其中钻二个半径为 $R_a = 6$ mm 的圆孔,样品夹的外半径为 $R_b = 12$ mm,如图 1 所示。将样品平展于圆孔并夹着固定,然后放置于双积分球光学系统的样品池用于测量,实验过程用液氮冷冻板作辅助保持组织活性之用。

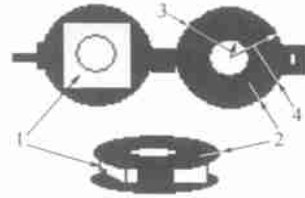


图 1 组织样品夹的示意图

1:组织样品;2:组织样品夹;3: $R_a = 6$ mm;4: $R_b = 12$ mm

Fig. 1 Map of the exhibition of the tissue sample holder

1: tissue sample; 2: tissue sample holder;

3: $R_a = 6$ mm; 4: $R_b = 12$ mm

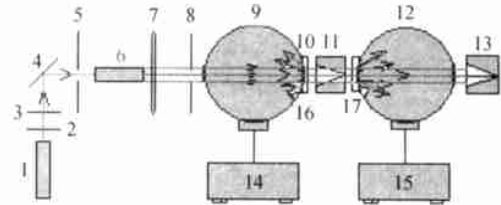


图 2 测量生物组织光学特性的双积分球系统

1:激光器;2,3:衰减片;4:反射镜;5,8:光阑;6:扩束器;7:偏振片;9,12:积分球;10:样品;11,13:光陷阱;14,15:探测系统;16,17:挡板

Fig. 2 Experimental setup of double-integrating sphere system for measuring the optical properties of biological tissues

1: laser; 2, 3: attenuator; 4: mirror; 5, 8: aperture; 6: beam expander; 7: polarizer; 9, 12: intergrating sphere; 10: sample; 11, 13: optical trap; 14, 15: detector system; 16, 17: baffle

2.2 生物组织光学特性参量的测量及其实验系统

2.2.1 生物组织的漫反射和漫透射的测量

双积分球系统的组成为:全固态连续钛宝石激光系统(美国 899-05 型),调节钛宝石激光系统输出 808 nm 近红外激光作实验用激光。光衰减片,反射镜,光阑,光阑,25 倍扩束器,偏振片,中国科学院安徽光机所产的光学积分球探测器以及光陷阱各两个,如图 2 所示。两个积分球的结构是完全一样的,球腔内径为 50 mm,样品窗及光入射窗或出光窗的直径都为 12 mm。调节光路使激光的光束通

过衰减片作适当的衰减,再由反射镜反射通过孔径为 2 mm 的光阑 后经 25 倍扩束镜使激光成为准直的宽光束,再通过孔径为 6 mm 的光阑 垂直进入入射窗和样品窗。积分球 只测量组织的漫反射光,不包含镜面反射光。样品后的光陷阱完全消除透过样品透射光及漫透射光,另一光陷阱放置在积分球 后,用以完全消除出射光。积分球 只测量组织的漫透射光,不包含准直透射光。在光阑 前加偏振片使激光成为线偏振激光及不加偏振片两种方式用于实验,测量样品内、外壁对 808 nm 激光及其线偏振激光的漫反射及漫透射。

测量的漫反射率方法为^[4]:计算漫反射率 R_d 的公式为

$$R_d = \left(K_s / K_p \right) \quad (1)$$

其中 K_p 为漫反射标准板的反射值, K_s 为样品的漫反射值, K_s 为漫反射标准板的反射率。计算漫透射率 T_d 的公式为

$$T_d = I_s / I_o \quad (2)$$

其中 I_s 为样品的漫透射量, I_o 为总透射量,总透射量的测量是把积分球 的光路调节到如图 3 所示,将入射光的方向与光轴成 3° 角,积分球 的出光孔处放置标准板。激光对样品两个侧面分别辐照一次。

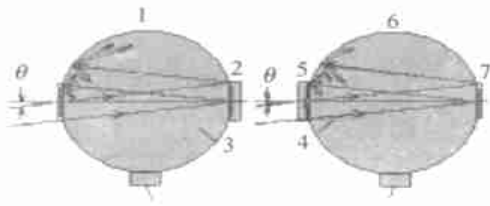


图 3 测量生物组织的镜面反射率和准直透射率的方法

1,6:积分球 ; 2,5:样品;3,4:挡板;7:标准参考板 $= 3^\circ$

Fig. 3 Measurement method of specular reflectance and collimated transmittance of biological tissue

1, 6: intergrating sphere ; 2, 5: sample; 3, 4: baffle; 7: standard reference plate $= 3^\circ$

2.2.2 生物组织的镜面反射和准直透射的测量

测量人组织的镜面反射光和准直透射光以及总透射光的双积分球系统以及方法除了将入射光的方向与光轴成 3° 角入射到组织外,积分球 的出光孔处放置标准板,如图 3 所示,其他与图 2 相同。积分球 探测测量包含组织的漫反射和镜面反射,积分球 探测测量包含组织的漫透射和准直透射,两者之和即总透射。样品的镜面反射率 R_m 的计算公式为

$$R_m = \left(K_s / K_p \right) - R_d \quad (3)$$

其中, K_p 为漫反射标准板的反射值, K_s 为样品的

漫反射值。样品的准直透射率 T_c 的计算公式为

$$T_c = (I_s / I_o) - T_d \quad (4)$$

其中, I_s 为样品的漫透射量, I_o 为总透射量。

2.3 统计学处理方法

实验数据以均数和标准差 ($X \pm SD$) 表示,利用统计软件 SPSS10 for Windows 作统计处理,采用 t 检验。

3 生物组织中光传输的理论模型

光子在生物介质中的传输可用辐射传输方程^[5]来描述。传输方程加上边界条件可给出问题的完全描述。根据具体情况对问题进一步作近似。下面介绍 Kubelka-Munk 二流理论。

Kubelka-Munk 二流理论适用于薄平板状的无源散射介质。Kubelka-Munk 二流模型最大的优点是其吸收系数 A_{KM} 和散射系数 S_{KM} 可直接用实验测出的反射系数 R ,透射系数 T 和样品厚度 d 表示^[6]。因此,其应用较广,它的参量通常用于医学物理学领域。当光入射到厚度为 X (cm) 的平行层混浊介质时,认为它的散射光只有两部分即前向散射通量 $i(x)$ 和后向散射通量 $j(x)$,它们的和为总的散射光强 $I(x)$ ^[7],其吸收系数 A_{KM} 和散射系数 S_{KM} 见文献^[4]。样品的吸收系数 A_{KM} 和散射系数 S_{KM} 为

$$A_{KM} = [(1 + R^2 + T^2) / 2R - 1] S_{KM} \quad (5)$$

$$S_{KM} = \frac{1}{Xb} \ln \left[\frac{1 - R / (a + b)}{T} \right] \quad (6)$$

样品的总衰减系数 E_t 和有效的衰减系数 E_{eff} 分别由公式^[8]

$$E_t = A_{KM} + S_{KM} \quad (7)$$

$$E_{eff} = \sqrt{A_{KM} (A_{KM} + 2S_{KM})} \quad (8)$$

计算。将人正常小肠、正常膀胱、膀胱癌组织看作平行的混浊介质,其厚度为 X ,设组织对激光以及线偏振激光的吸收系数、散射系数、总衰减系数、有效的衰减系数分别为 $A_{KM}, S_{KM}, E_t, E_{eff}$ 和 $A_{KM}^*, S_{KM}^*, E_t^*, E_{eff}^*$ 。

4 结果与分析

实验以 808 nm 近红外激光及其线偏振激光对样品的两个侧面各作同样条件的 10 次测量,每次测量均改变激光对样品辐照的位置,所测数据有很好的重复性并用 EXCEL for Windows 作处理。实验测得 808 nm 激光及其线偏振激光辐照组织内、外壁的漫反射率、漫透射率、镜面反射率、准直透射率

均没有显著性差异 ($P > 0.05$), 因此, 对内、外壁所测结果在同一波长下作平均值处理。

4.1 Kubelka-Munk 二流模型下人正常小肠、膀胱和膀胱癌组织光传输特性参量

Kubelka-Munk 二流模型下, 三种不同的人离体组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的漫反射

率、漫透射率、镜面反射率、准直透射率分别为 R_d, T_d, R_m, T_c 和 $R_d^*, T_d^*, R_m^*, T_c^*$, 并列于表 1。

Kubelka-Munk 二流模型下, 三种不同的人离体组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的吸收系数、散射系数、总衰减系数、有效衰减系数可由公式 (5) ~ (8) 计算得出, 并列于表 2。

表 1 Kubelka-Munk 二流模型下人组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的漫反射率、漫透射率、镜面反射率、准直透射率

Table 1 Diffuse reflectance, diffuse transmittance, specular reflectance, collimated transmittance of human tissues in Kubelka-Munk two-flux model at laser and linearly polarized laser irradiation

Tissues	R_d	T_d	R_m	T_c	R_d^*	T_d^*	R_m^*	T_c^*
Normal small intestine	0.157 ± 0.016	0.319 ± 0.016	0.024 ± 0.002	0.047 ± 0.003	0.181 ± 0.007	0.418 ± 0.021	0.029 ± 0.001	0.060 ± 0.004
Normal bladder	0.316 ± 0.016	0.250 ± 0.011	0.022 ± 0.002	0.072 ± 0.004	0.364 ± 0.015	0.271 ± 0.012	0.024 ± 0.001	0.095 ± 0.004
Bladder cancer	0.311 ± 0.014	0.082 ± 0.005	0.033 ± 0.003	$8.6 \times 10^{-5} \pm 0.05 \times 10^{-3}$	0.310 ± 0.014	0.085 ± 0.005	0.034 ± 0.003	$9.7 \times 10^{-5} \pm 0.05 \times 10^{-3}$

表 2 Kubelka-Munk 二流模型下人组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的吸收系数、散射系数、总衰减系数、有效衰减系数

Table 2 Absorption coefficients, scattering coefficients, total attenuation coefficients, effective attenuation coefficients of human tissues in Kubelka-Munk two-flux model at laser and linearly polarized laser irradiation

Tissues	A_{KM}/cm^{-1}	S_{KM}/cm^{-1}	E_t/cm^{-1}	E_{eff}/cm^{-1}	A_{KM}^*/cm^{-1}	S_{KM}^*/cm^{-1}	E_t^*/cm^{-1}	E_{eff}^*/cm^{-1}
Normal small intestine	5.92 ± 0.26	2.29 ± 0.14	8.21 ± 0.40	7.89 ± 0.39	4.36 ± 0.19	1.87 ± 0.08	6.23 ± 0.27	5.95 ± 0.27
Normal bladder	5.29 ± 0.03	6.30 ± 0.04	11.6 ± 0.07	9.73 ± 0.09	4.42 ± 0.02	6.70 ± 0.03	11.1 ± 0.07	8.88 ± 0.04
Bladder cancer	9.63 ± 0.04	12.5 ± 0.06	22.1 ± 0.12	18.3 ± 0.09	9.52 ± 0.04	12.2 ± 0.06	21.7 ± 0.10	18.0 ± 0.09

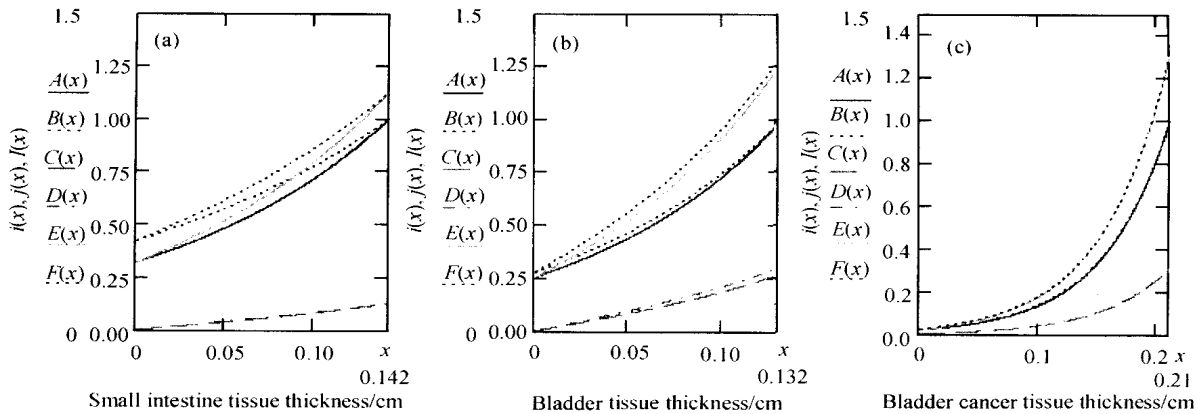


图 4 808 nm 激光及其线偏振激光入射入正常小肠、膀胱和膀胱癌组织的前向散射通量、反向散射通量和总散射通量

Fig. 4 Forward scattered photon fluxes, backward scattered photon fluxes, total scattered photon fluxes of human normal small intestine, human normal bladder, human bladder cancer tissues in Kubelka-Munk two-flux model at 808 nm laser and linearly polarized laser irradiation

4.2 Kubelka-Munk 二流模型下人正常小肠、膀胱和膀胱癌组织中光强的一维分布

在 Kubelka-Munk 二流模型下, 人正常小肠、正常膀胱和膀胱癌组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的前向散射光通量 $i(x)$ 和反向散射通量 $j(x)$ 以及总散射光通量 $I(x)$ 在组织中沿厚度方向的一维光强分布可利用表 2 的实验数据和数学软件

Mathcad2001 for Windows 把组织中光传输过程的光强分布自动生成, 如图 4 所示。图中, $A(x)$ 和 $B(x)$ 分别为 808 nm 激光及其线偏振激光入射入正常小肠、正常膀胱和膀胱癌组织的前向散射通量, $C(x)$ 和 $D(x)$ 分别为 808 nm 激光及其线偏振激光入射上述组织的反向散射通量, $E(x)$ 和 $F(x)$ 分别为 808 nm 激光及其线偏振激光入射上述组织

的总散射通量。

结果表明,在 Kubelka-Munk 二流模型下,人正常小肠、正常膀胱和膀胱癌组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的光传输特性均有差异。

5 讨 论

从实验结果可见, Kubelka-Munk 二流模型下,人正常膀胱组织与人膀胱癌组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的各个光学特性参量均有非常显著性差异 ($P < 0.01$),因而提示可采用光辐射测量技术通过测定人正常膀胱组织与人膀胱癌组织的光学特性参量对人膀胱组织病变前后的光学特性参量进行对比分析,为医学诊断提供一种新的光信息分析方法。人正常膀胱组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的光学特性参量均有差异,其中吸收系数和有效衰减系数有明显差异。人膀胱癌组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的光学特性参量均没有显著性差异 ($P > 0.05$),原因是:1) 人正常膀胱组织比较薄,而人膀胱癌组织比较厚;2) Kubelka-Munk 二流理论的一个主要假设是辐射度完全由漫射得到^[9]。而线偏振光通过薄的生物组织时,在光轴上所产生的散射光比非偏振光入射要少^[3],导致组织的散射光通量及光学特性的变化。而人膀胱癌组织的厚度比较厚,因此,其对是否线偏振激光入射没有明显的差异。同时可见,人膀胱癌组织对 808 nm 近红外线偏振激光的退偏较大而使入射到人膀胱癌组织的 808 nm 近红外线偏振激光很快退偏为非线偏振激光。人正常小肠组织对 808 nm 激光及其线偏振激光的光学特性参量均有显著性差异 ($P < 0.01$),可见,人正常小肠组织对 808 nm 近红外线偏振激光的退偏较小,因而人正常小肠组织对 808 nm 近红外线偏振激光入射的退偏较小。此结果可为生物医学上偏振成像技术的应用以及 PDT 达到最佳治疗效果的光源选择提供有益的数据与参考。在 Kubelka-Munk 二流模型下,在 808 nm 近红外激光

及其线偏振激光辐照下,三种组织对入射激光及其线偏振激光的前向散射通量、后向散射通量和总散射通量的光强的衰减是有明显不同的,如图 4 所示。808 nm 近红外激光及其线偏振激光辐照人正常膀胱组织与人膀胱癌组织的前向散射通量、后向散射通量和总散射通量有明显的差异,如图 4(b),(c) 所示。而辐照人正常小肠组织与人正常膀胱组织的前向散射通量、后向散射通量和总散射通量也有明显的不同,如图 4(a),(b) 所示。可见,808 nm 近红外激光及其线偏振激光辐照三种人组织的光强分布均有明显的不同。

参 考 文 献

- 1 Vanitha Sankaran, Matthew J. Everett, Duncan J. Maitland *et al.*. Comparison of polarized-light propagation in biological tissue and phantoms [J]. *Opt. Lett.*, 1999, **24**(15):1044~1046
- 2 Joerg-P. Ritz, Andre Roggan, Christoph Isbert *et al.*. Optical properties of native and coagulated porcine liver tissue between 400 and 2400 nm [J]. *Lasers Surg. Med.*, 2001, **29**:205~212
- 3 Jianan Qu, Calum MacAulay, Stephen Lam *et al.*. Optical properties of normal and carcinomatous bronchial tissue [J]. *Appl. Opt.*, 1994, **33**(31):7397~7405
- 4 Wei Huajiang, Li Xiaoyuan, Wu Guoyong *et al.*. Scattering and absorbing characteristics of human arteries and veins in Kubelka-Munk model at He-Ne laser in vitro [J]. *Chinese J. Lasers*, 2001, **A28**(6):573~576
魏华江,李晓原,巫国勇等. Kubelka-Munk 模型下人血管对 He-Ne 激光的散射与吸收特性[J]. *中国激光*, 2001, **A28**(6):573~576
- 5 Arnold D. Kim, Akira Ishimaru. Optical diffusion of continuous-wave, pulsed, and density waves in scattering media and comparisons with radiative transfer [J]. *Appl. Opt.*, 1998, **37**(22):5313~5319
- 6 Alfred Vogel, Christian Dlugos, Roland Nuffer *et al.*. Optical properties of human sclera, and their consequences for transscleral laser applications [J]. *Lasers Surg. Med.*, 1991, **11**:331~340
- 7 R. Graaff, J. G. Aarnoudse, F. F. M. de Mul *et al.*. Light propagation parameters for anisotropically scattering media based on a rigorous solution of the transport equation [J]. *Appl. Opt.*, 1989, **28**(12):2273~2279
- 8 A. Seiyama, S.-S. Chen, H. Kosaka *et al.*. Microspectroscopic measurement of the optical properties of rat liver in the visible region [J]. *Journal of Microscopy*, 1994, **175**(1):84~89
- 9 W. J. M. van der Putten, M. J. C. van Gemert. A modelling approach to the detection of subcutaneous tumours by haematoporphyrin-derivative fluorescence [J]. *Phys. Med. Biol.*, 1983, **28**(6):639~645