

基于光声泵浦成像的氧分压测量定量分析*

何霄¹⁾ 肖小舟¹⁾ 何滨²⁾ 薛平²⁾ 肖嘉莹^{1)†}

1) (中南大学基础医学院生物医学工程系, 长沙 410083)

2) (清华大学物理系, 低维量子物理国家重点实验室, 北京 100084)

(2023 年 6 月 26 日收到; 2023 年 7 月 21 日收到修改稿)

光声泵浦成像是一种新型的高特异性光声分子影像技术. 它可以避免常规光声成像中来自血液等强背景信号的干扰, 实现组织中微弱目标分子的探测, 并通过对泵浦-探测激光间的延时扫描, 获得组织中的氧分压分布. 本文采用亚甲基蓝作为分子探针, 通过对血红蛋白溶液中氧分压变化的监测, 开展了对光声泵浦成像的定量分析研究. 本文采用高斯噪声模型, 获得了三重态差分信号稳定性随着平均次数变化的规律, 并在此基础上对氧分压测量的误差进行了分析. 结果表明, 在平均次数为 200 次条件下, 氧分压在 300—550 mmHg (1 mmHg = 133 Pa) 区间内, 所搭建系统的检测精度优于 33 mmHg. 本研究将对光声泵浦成像技术的进一步发展和应用起到重要的指导作用.

关键词: 光声泵浦成像, 氧分压, 瞬态三重差分, 定量分析**PACS:** 81.70.Cv, 78.20.Pa, 06.20.Dk**DOI:** 10.7498/aps.72.20231041

1 引言

光声成像 (photoacoustic imaging, PA) 是一种新型的生物学医学无损成像方式^[1]. 它通过收集脉冲激光照射组织所产生的超声波进行成像, 因此兼具了光学成像丰富的分子影像功能和超声成像的高穿透深度的优势, 在基础医学和临床医学中显示了巨大的应用潜力.

光声成像作为一种大深度分子影像手段, 其主要依赖目标分子的特异性光吸收进行探测^[2]. 然而, 由于光声成像中入射激光主要被血液中的血红蛋白所吸收, 所以常规的光声成像通常用来对组织中的血管网络或血氧分布进行成像. 当目标分子浓度较低时, 其产生的微弱的光声信号就会被淹没在血液等强背景光声信号中^[3,4]. 因此, 常规的光声成像仅能对高浓度的造影剂进行成像^[5].

光声泵浦成像是一种基于泵浦-探测的新型光声分子影像技术^[6,7]. 由于生物组织分子的激发态寿命通常仅有皮秒或纳秒的量级, 激发后会快速衰减到基态. 而对于亚甲基蓝等卟啉类分子, 其三重态寿命可达微秒量级. 因此光声泵浦成像可以通过探测光信号的差分, 排除血液等强背景光声信号的干扰, 对处于三重态的该类分子实现高选择性的探测. 因此, 光声泵浦成像可以结合现代分子探针技术, 实现大深度、高特异性的目标分子成像^[8]. 此外, 光声泵浦成像还可以通过对三重态寿命的探测, 在不依赖于探针浓度的情况下获得生物体内氧分压的分布^[9,10]. 在近期的工作中, 本课题组提出了一种新颖的脉冲激光延迟调节技术^[11], 实现了快速自动化的光声泵浦成像, 并通过交错采集的方法, 有效抑制了激光器能量的波动, 显著地提升了光声泵浦成像的速度和精度, 使得该技术在光动力治疗监测等临床中的应用成为了可能^[12].

* 低维量子物理国家重点实验室开放科研基金项目 (批准号: KF202209)、湖南省自然科学基金 (批准号: 2022JJ30756)、中南大学创新驱动项目 (批准号: 2020CX004) 和深圳市科技创新委员会自由探索基础研究计划 (批准号: 2021Szzvup168) 资助的课题.

† 通信作者. E-mail: jiayingxiao@csu.edu.cn

然而,目前光声泵浦成像技术的研究仍处于初始阶段.首先,光声泵浦成像需要进行大量的信号平均,以获得高信噪比的三重态差分图像,但是目前缺乏相关的图像稳定性的研究.此外,基于该技术的氧分压监测目前也仍处于定性研究阶段,同样缺乏相关的误差量化分析研究.为此,本文搭建了一套基于亚甲基蓝的光声泵浦氧分压检测系统,通过对牛血红蛋白溶液中氧分压的监测,展开对光声泵浦成像技术的定量研究.本文将对信号平均次数与三重态差分信号稳定性之间的关系进行量化分析,并进一步对所测氧分压的不确定度进行研究,从而对基于光声泵浦的氧分压测量的稳定性和准确性进行评估,为该技术的进一步发展和临床应用提供依据.

2 研究方法

2.1 基于光声泵浦的氧分压测量原理

光声泵浦技术原理如图1所示.采用两束脉冲激光照射样品,其中泵浦光用来将目标分子激发到激发态,由探测光对处于激发态的目标分子进行探测.当卟啉类分子(如亚甲基蓝)被泵浦光激发时,它会从基态 S_0 激发到激发单重态 S_1 ,然后通过系间窜越(intersystem crossing, ISC)转变为三重态(T_1),由于自旋禁制的作用,这类 T_1 态分子相对稳定,寿命为微秒量级.因此在探测光照射时,仍然有大量分子处于 T_1 态.然而,生物组织内大多数分子激发态寿命仅为皮秒纳秒量级,泵浦光照射后会迅速衰减,处于激发态的分子很少.因此,可通过是否存在泵浦光时所得的光声信号的差分,选择性地获得 T_1 态分子的光声信号.这样,就可以排除组织内的血液等其他光吸收物质的背景信号,实现对卟啉等具有 T_1 态的分子的高特异性成像.上述光声差分检测方法称为瞬态三重差分(transient triplet differential, TTD),计算公式如下:

$$S_{\text{TTD},t=\tau} = S_{\text{pump} + \text{probe},t=\tau} - S_{\text{pump},t=\tau} - S_{\text{probe},t=\tau}, \quad (1)$$

其中, $S_{\text{TTD},t=\tau}$ 是通过差分去除背景后得到的 TTD 信号, $S_{\text{pump} + \text{probe},t=\tau}$ 是泵浦和探测光同时激发时的光声信号, $S_{\text{pump},t=\tau}$ 是仅泵浦光激发产生的泵浦光信号, $S_{\text{probe},t=\tau}$ 是仅探测光激发产生的探测光信号, τ 表示探测激光相对于泵浦激光的延迟时间.

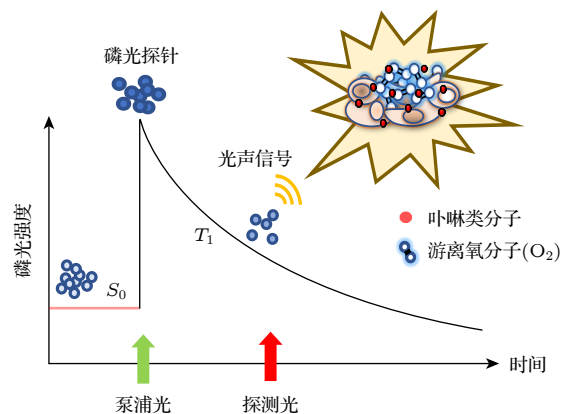


图1 光声泵浦成像原理示意图

Fig. 1. Illustration of the principle of photoacoustic pump-probe imaging.

值得注意的是, T_1 态分子可与生物组织中的氧分子相互作用并发生动态淬灭(分子氧得到能量变成单线态氧, T_1 态分子失去能量返回基态 S_0),使处于 T_1 态分子的寿命进行缩短,因此可通过 T_1 态的寿命计算得到组织中的氧分压(oxygen partial pressure, p_{O_2}). TTD 信号幅值和 T_1 态寿命的关系为

$$A(t) = A^0 e^{(-t/T)}, \quad (2)$$

其中, $A(t)$ 代表延迟时间 $\tau = t$ 时的 TTD 信号, A^0 代表 TTD 信号衰减前的幅度,而 T 则是估计得到的 T_1 态寿命.通过以下公式可将寿命 T 转换为生物组织中的 p_{O_2} :

$$T^0/T = 1 + k_Q T^0 p_{O_2}, \quad (3)$$

其中, T^0 代表当 $p_{O_2} = 0$ mmHg 时的 T_1 态寿命,而 k_Q 则是淬灭速率常数.对于亚甲基蓝分子而言, $T^0 = 79.6 \mu\text{s}$, $k_Q = 0.0036 \mu\text{s}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$.

2.2 光声泵浦氧分压检测系统

该系统结构组成见图2(a),包括两台 OPO 可调谐激光器(SpitLight OPO 600)、一台数字延迟/脉冲发生器(DG645, Stanford Research Systems, CA)、一个 5 MHz 水浸超声平探头(中心频率 5 MHz、晶元尺寸 6 mm、带宽 80%,常州道博超声电子有限公司定制)、脉冲接收/发射器(DPR500, Imaginant, NY)以及一张数据采集卡(NIPCI-5124).其中泵浦 OPO 激光器由 355 nm 光泵浦,采用 665 nm 对亚甲基蓝激发,另一台 OPO 激光器由 532 nm 光泵浦,用于产生 830 nm 的探测光.两台激光器重复频率均为 20 Hz.泵浦和探测激光器通过一个

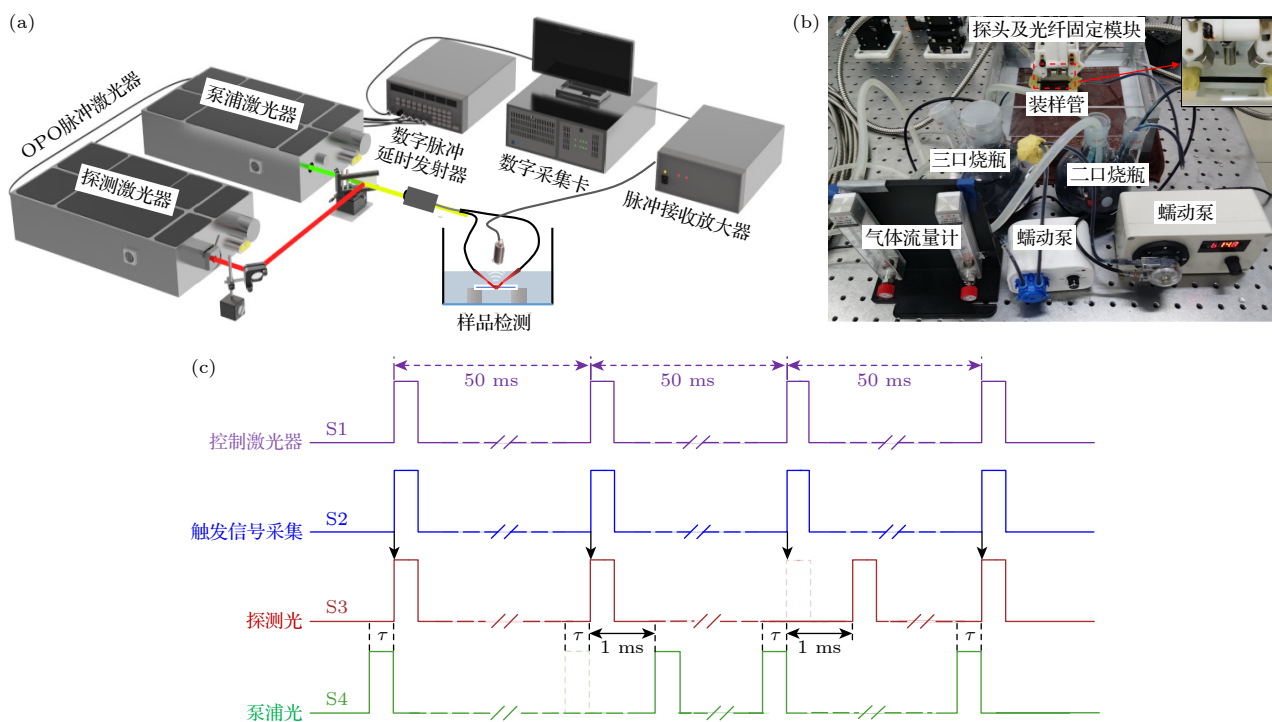


图2 基于泵浦-探测的组织氧含量体外光声定量检测系统 (a) 光声泵浦成像系统图; (b) 溶液循环装置图; (c) 脉冲序列波形示意图

Fig. 2. Based on pump-probe technique, *in vitro* quantitative detection system for tissue oxygen content: (a) Schematic diagram of photoacoustic pump-probe imaging system; (b) diagram of solution circulation device; (c) illustration of pulse sequence waveform.

二向色镜耦合到 1×2 光纤束中. 光纤束的输出端是两个 $1.5 \text{ mm} \times 3.5 \text{ cm}$ 的矩形状输出口, 固定在线性超声阵列的两侧, 如图 2(b) 所示. 泵浦激光器在样本上的激光能量密度为 15 mJ/cm^2 , 探测激光为 23 mJ/cm^2 , 均在人体安全阈值之内^[13].

采集数据时的序列流程如图 2(c) 所示. 在光声泵浦成像中, 通过 DG645 在 50 ms 的周期内产生 4 种相互之间有设定延时的脉冲, 分别作为两台激光器的 Flash 和 Q-switch 触发信号. 同时, 探测脉冲的触发信号也作为 5124 采集卡的采集触发信号. 当激光器出光后, 照在样品上产生光声效应, 通过超声探头采集信号并传输到 DPR500 将信号放大, 接着传输到 5124 采集卡采集并保存到主机. 通过上述步骤采集到 $S_{\text{pump} + \text{probe}, t=\tau}$, $S_{\text{pump}, t=\tau}$ 和 $S_{\text{probe}, t=\tau}$ 三种序列的数据, 再经过差分后获得 TTD 信号. 由于 OPO 激光器需要稳定工作在 20 Hz, 所以泵浦光和探测光总会同时出光. 为获取仅存在泵浦光或者探测光时候的光声信号, 本文采用一种激光脉冲延迟调节技术, 使用 DG645 将 OPO 泵浦光或探测光相对于采集卡触发信号向后调制一段时间 (如 1 ms 左右), 这样就可实现三种采集序列的快速自动采集. 在此基础上, 三种序列采用交

错采集的方式, 从而避免了激光器能量长周期波动的影响, 有利于降低平均次数, 提高采集效率.

本文中所测样品为掺有 100 mg/mL 牛血红蛋白的亚甲基蓝溶液 (浓度为 $400 \mu\text{mol/L}$). 为改变溶液的 p_{O_2} , 本文搭建了一套相对密闭的溶液循环装置, 包括一个二口烧瓶、一个三口烧瓶、气体流量计、两个蠕动泵及其软管和一个与软管连通的透明塑料装样管. 通过气体流量计将氧气和氮气分别通入三口瓶的溶液中, 并借助气体流量计调节两种气体的通入速率来改变溶液的 p_{O_2} , 如图 2(b) 所示.

2.3 材料与氧分压实验设计

亚甲基蓝是一种芳香杂环化合物, 其分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$, 常被用作化学指示剂、染料等^[14]. 作为一种临床上使用的注射药物, 已经通过美国食品药品监督管理局的批准^[15,16], 并在近年来被广泛应用于各种光动力治疗的相关研究中^[17,18]. 本文确定了亚甲基蓝的 S_0 态吸收峰为 665 nm, 其 T_1 态的最大吸收峰为 830 nm 左右. 为确定亚甲基蓝 T_1 态的最大吸收峰, 本文用 $400 \mu\text{mol/L}$ 的亚甲基蓝溶液进行了光声光谱扫描实验 (平均次数 $n = 500$), 并通过 (1) 式计算得到不同探测波长下的

TTD 信号, 从而获得其 T_1 态的瞬态光吸收谱.

TTD 信号的波动性是光声泵浦成像系统稳定性的重要表征, 直接影响到信号平均次数的选择与检测结果的准确性. 为考察血红蛋白浓度以及亚甲基蓝浓度对 TTD 信号的影响, 本文进行两组对比实验. 在第 1 组实验中, 样品溶液中的亚甲基蓝浓度为 400 $\mu\text{mol/L}$, 共设置了 100, 50 和 0 mg/mL 三种不同浓度的牛血红蛋白测试样品. 其中, 100 mg/mL 与人体血红蛋白浓度相似, 可用于模拟正常血液条件. 第 2 组实验中, 牛血红蛋白的含量为 0 mg/mL , 亚甲基蓝的浓度分别为 50, 100, 200 和 400 $\mu\text{mol/L}$. 信号的平均次数为 200 次.

为获得系统在不同 p_{O_2} 下的测量误差, 本文采集了 6 组不同 p_{O_2} 下的光声泵浦数据, 其对应的氮气和氧气通入速率的比值分别为 1:0.25, 1:0.5, 1:0.75, 1:1, 1:1.5 和 1:2. 在每个氮氧比下循环通气 30 min 后, 采集不同延迟下管中样品的 TTD 信号, 并通过数据拟合得到 T_1 态寿命和 p_{O_2} . 为了平衡采集时间和数据准确性, 平均次数 n 设置为 200 次. 泵浦和探测光之间的延迟时间共有 10 个, 分别为 0, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.75, 3.5, 4 和 6 μs .

2.4 数据处理与分析方法

在光声泵浦成像中, p_{O_2} 是通过 T_1 态寿命 T 转化得到的, 而 T 是通过在不同延迟 τ 下采集得到的 TTD 信号拟合得出, 因此 p_{O_2} 测量的准确性和 TTD 信号密切相关. TTD 信号既会受两台 OPO 激光器脉冲能量波动的影响, 也会受到组织内血液等背景信号的干扰, 因此需要大量样本数据取平均值, 才能获得可靠的数据. 基于以上原因, 研究平均次数对 TTD 的测量误差之间的关系显得尤为重要.

本文采用交错采集的方法获取 TTD 数据, 可认为单次测量得到的 TTD 信号符合随机独立分布^[19]. 因此, 本文通过多次采集得到 TTD 的样本标准差 s , 来估算平均后 TTD 信号的标准误差 (standard error of the mean, SEM), 计算公式为^[20]

$$\text{SE} = s/\sqrt{n}, \quad (4)$$

式中, n 为平均次数; TTD 信号的样本标准差 s 计算公式为^[21]

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}, \quad (5)$$

其中, x_i 为样本中第 i 个检测值, \bar{x} 为样本均值.

由 (4) 式可知, TTD 平均后的测量误差是随着平均次数 n 的增大而减小, 但在实际的 p_{O_2} 测量中, 由于采集的数据量较大, 平均次数过高会导致采集时间过长, 所以需要平衡采集时间和数据准确度之间的关系, 合理地设置平均次数 n .

为对不同 p_{O_2} 下光声泵浦检测的误差进行评估, 本文以 TTD 标准误差 SE 为基础, 采用高斯噪声模型, 模拟生成不同 p_{O_2} 不同延时下的测量数据, 然后拟合处理得到 p_{O_2} 数值, 通过统计分析获得系统 p_{O_2} 测量的不确定度. 模拟得到的 TTD 数据 $As(\tau, p)$ 如下式所示:

$$As(\tau, p) = Ae(\tau, p) + \text{SE}(\tau, p) \times \text{RAD}, \quad (6)$$

其中, $Ae(\tau, p)$ 和 $\text{SE}(\tau, p)$ 分别是氧分压为 p 、延迟为 τ 条件下, 实验测得的 TTD 信号幅值和标准误差, RAD 为采用 box-muller 方法生成的“服从标准高斯分布”的随机数^[22]. 对每个不同的 p_{O_2} , 本文模拟生成了 10000 组测量数据, 其中每组测量的信号平均次数为 200 次.

3 实验结果

3.1 亚甲基蓝的瞬态吸收谱

亚甲基蓝的基态 (S_0) 光吸收谱可由分光光度计获得, 其吸收峰在 665 nm, 如图 3(a) 所示. 因此, 本文采用 665 nm 作为激发波长, 测量了亚甲基蓝 T_1 态的吸收光谱 (如图 3(b)). 实验结果表明, 在 700—900 nm 的波长范围内, MB 溶液的 TTD 信号首先随波长的增大而增加, 在 755 nm 处上升趋势变缓慢, 随后又逐渐上升, 在 830 nm 左右达到峰值, 之后逐渐减小. 因此, 本文最终选择 830 nm 作为探测光波长.

光声泵浦成像能够通过信号差分的方法去除血液等强背景信号, 获得 T_1 态分子的光声信号. 图 4(a) 为 400 $\mu\text{mol/L}$ 亚甲基蓝溶液采集 100 次平均后得到的 $S_{\text{pump} + \text{probe}, \tau=0}$, $S_{\text{pump}, \tau=0}$, $S_{\text{probe}, \tau=0}$ 和 $S_{\text{TTD}, \tau=0}$ 信号. 可以看出, 亚甲基蓝的泵浦光和 TTD 信号都明显大于探测光, 这证明了亚甲基蓝有较高的基态和 T_1 态激发效率. 对于单次测量的 TTD 信号, 提取其在图 4(a) 中 TTD 平均信号峰值处 (黑线) 的值, 可得 100 次测量 TTD 信号幅值的分布, 如图 4(b) 所示. 可以看出, TTD 幅值围绕其均值 (红线) 在上下波动, 其波动幅度代表了测量系统的稳定性.

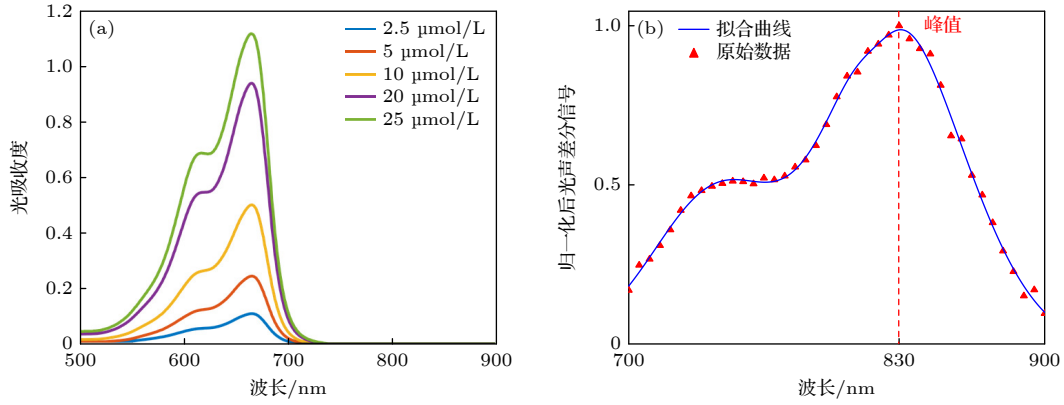


图3 亚甲基蓝的基态和激发态吸收光谱 (a) 基态吸收光谱图; (b) 经能量校正后的 T_1 态吸收光谱图

Fig. 3. Ground-state and excited-state absorption spectra of methylene blue: (a) The absorption spectrum of the ground state; (b) the energy-corrected absorption spectrum of the T_1 state.

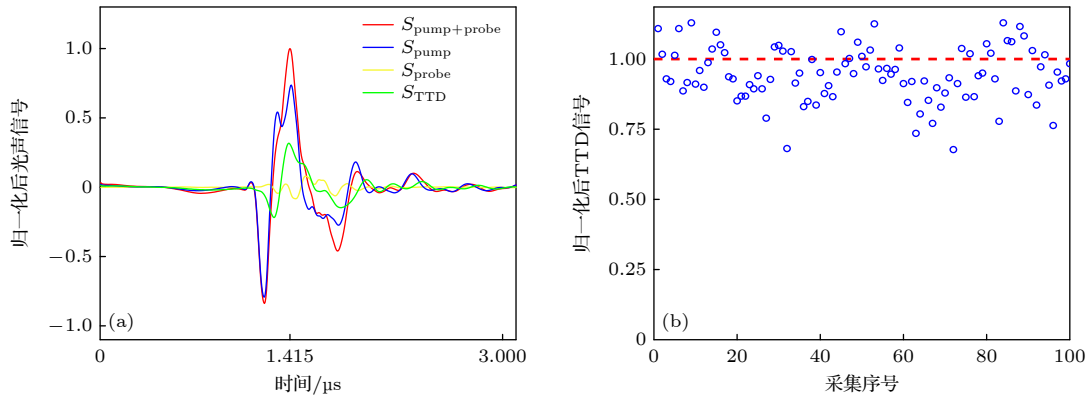


图4 通过光声泵浦成像得到的光声信号 (a) 归一化后的MB的光声信号示意图; (b) 归一化后的TTD幅值分布图(基于平均值归一化)

Fig. 4. Photoacoustic signals obtained through photoacoustic pump-probe imaging: (a) Schematic representation of the normalized photoacoustic signal of MB; (b) normalized distribution of TTD amplitude (normalized to the mean).

3.2 TTD 信号波动性的影响因素研究

图5(a)显示了不同浓度牛血红蛋白溶液归一化后TTD标准差(橘红色虚线),以及归一化后的泵浦光信号的幅值(蓝色虚线).可以看出,随着样品中血红蛋白浓度的加大,其泵浦光信号逐渐增大,同时其TTD幅值的波动性也在加大.其中,泵浦光信号的增大是由于溶液光吸收系数的增大.由于各组测量相对独立,因此泵浦光信号的增加必然造成泵浦光信号标准差的增大.而由(1)式和(5)式可知,其也会造成TTD信号标准差的增大.

另外,当溶液中血红蛋白含量一定,仅亚甲基蓝浓度发生变化时,可见TTD的标准差始终保持在8%以下(图5(b)).这是因为在牛血红蛋白浓度一定的情况下,溶液中亚甲基蓝的浓度变化并不会引起其光吸收系数的太大改变.这两组实验结果表明,在亚甲基蓝浓度较低的条件,光声泵浦成像

的稳定性主要受到样品背景信号波动的影响,背景信号越强,TTD信号的幅值波动越大.

3.3 光声泵浦对氧分压的定量分析研究

图6(a)显示了3组不同 p_{O_2} 下,所测量得到的归一化后的TTD衰减曲线,TTD曲线上的不确定度为其标准差.可以看出,随着氮氧比的增大,亚甲基蓝的 T_1 态寿命明显延长,因此相应TTD曲线的衰减速率会减慢.还可以看出,3组TTD曲线都显示出非常好的指数衰减趋势,其拟合后曲线的拟合优度 R^2 均达到0.95以上.

由于测量单组TTD衰减曲线所需时间(平均200次)可达10 min,所以本文根据实验测量得到的TTD数值及其标准差,通过数值模拟的方法获得了1万组TTD衰减曲线,来对 p_{O_2} 测量的准确性进行评估.因此,对于单个 p_{O_2} 可拟合得到1万

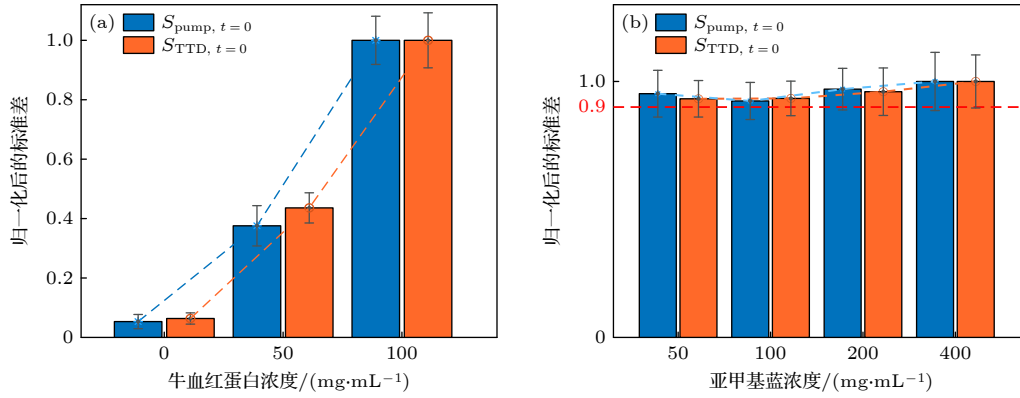


图 5 TTD 信号波动性分 (a) 含不同浓度牛血红蛋白的 TTD 标准差; (b) 含不同浓度亚甲基蓝溶液的 TTD 标准差

Fig. 5. Analysis of TTD signal variability: (a) TTD standard deviation with different concentrations of bovine hemoglobin; (b) TTD standard deviation with different concentrations of methylene blue solution.

个 T_1 态寿命. 图 6(b) 为氮氧比为 1:0.25 的条件下, 对模拟所得的 1 万个 T_1 态寿命排序后得到的累计分布图. 图中横坐标是排序后的样本序号, 纵坐标为 T_1 态寿命. 可以看出, 所得 T_1 态寿命 T 分布在 $0.85\text{--}0.97\text{ }\mu\text{s}$ 之间. 此外, 数据拟合结果表明, 这 1 万条 TTD 衰减曲线的拟合优度 R^2 均在该组原实验数据的 $\pm 2\%$ 范围内, 表明了在各次数 200 次时获得了较好的测量准确性.

图 6(c) 为根据图 6(b) 所得的累积概率积分曲线. 对该曲线进行微分即可得概率密度分布曲线, 如图 6(d) 中红色点状曲线所示. 图 6(d) 中蓝色曲线为概率密度分布曲线多项式拟合后所得平滑后的曲线, 其能克服模拟次数的限制, 更好地反映系统 p_{O_2} 测量值的概率密度分布. 可以看出, 该组氮氧比下最大似然的 T_1 态寿命为 $0.9094\text{ }\mu\text{s}$, 相应的 95% 置信区间为 $0.8833\text{--}0.9375\text{ }\mu\text{s}$.

通过 (3) 式将每组模拟所得的 T_1 态寿命转化为 p_{O_2} 值, 即可得 p_{O_2} 检测值的统计分布. 图 6(e) 显示了 6 组不同氮氧比下最大似然的 p_{O_2} 数值, 与其对应的 T_1 态寿命. 图中曲线上标注的误差棒为 T_1 态寿命的 95% 置信区间. 将图 6(e) 中绿色圈所示数据 (氮氧比为 1:1) 放大可得图 6(f). 可以看出, 其 T_1 态寿命测量值在 $0.641\text{--}0.672\text{ }\mu\text{s}$ 范围内波动, 对应的 p_{O_2} 在 $409.7\text{--}429.6\text{ mmHg}$ 范围内波动, p_{O_2} 测量误差约为最优值的 4.75%. 同理, 也得到了其他组的测量误差, 分别为 4.53%, 5.01%, 5.84%, 4.75%, 5.73%, 5.69%. 可见, 本文中光声泵浦氧分压检测系统的测量误差总体保持在 6% 以下, 具有较高的测量准确性.

4 讨论

传统的光声成像由于受到强血液背景信号的干扰, 其分子影像能力较弱. 相对地, 光声泵浦成像可以通过对亚甲基蓝等具有长寿命 T_1 态的探针分子的泵浦-探测, 实现深层组织中的微弱目标分子的高特异性成像. 此外, 光声泵浦成像还可以实现不依赖于探针浓度的组织氧分压的定量检测, 在肿瘤、神经和心血管等的临床诊断中有广泛应用前景. 然而, 光声泵浦成像是长期以来一直在成像速度、稳定性和准确性等方面面临挑战. 虽然本课题组提出的激光脉冲延迟调节技术, 以及其他一系列新型脉冲序列设计方法, 有力地提升了其成像速度和质量, 但是总体上光声泵浦成像的研究仍处于初级阶段, 对其成像稳定性和准确性的定量分析研究还非常少.

光声泵浦成像以 TTD 差分成像为基础. 在 TTD 信号波动性分析中, 本文采用高斯噪声模型来评估该技术的检测性能. 显然, 随着平均次数的增加, TTD 信号的噪声会显著减少, 进而提升图像的质量和可靠性. 然而, 需要注意的是, 增加平均次数会导致时间分辨率的降低, 并且过长时间的连续采集会导致激光出光能量逐渐衰减, 进一步影响成像的准确性. 因此, 在选择平均次数时需要权衡稳定性和时间分辨率之间的关系, 根据具体需求进行平衡. 在本研究中, 采集一组氧分压数据所需的时间为 5 min. 如果需要提高系统的时间分辨率, 需要降低背景血红蛋白浓度, 或者降低对系统检测精度的要求. 对于氧分压变化本文研究还表明, 与不同亚甲基蓝浓度的影响相比, 背景信号的强度是影响 TTD 信号稳定性的关键因素.

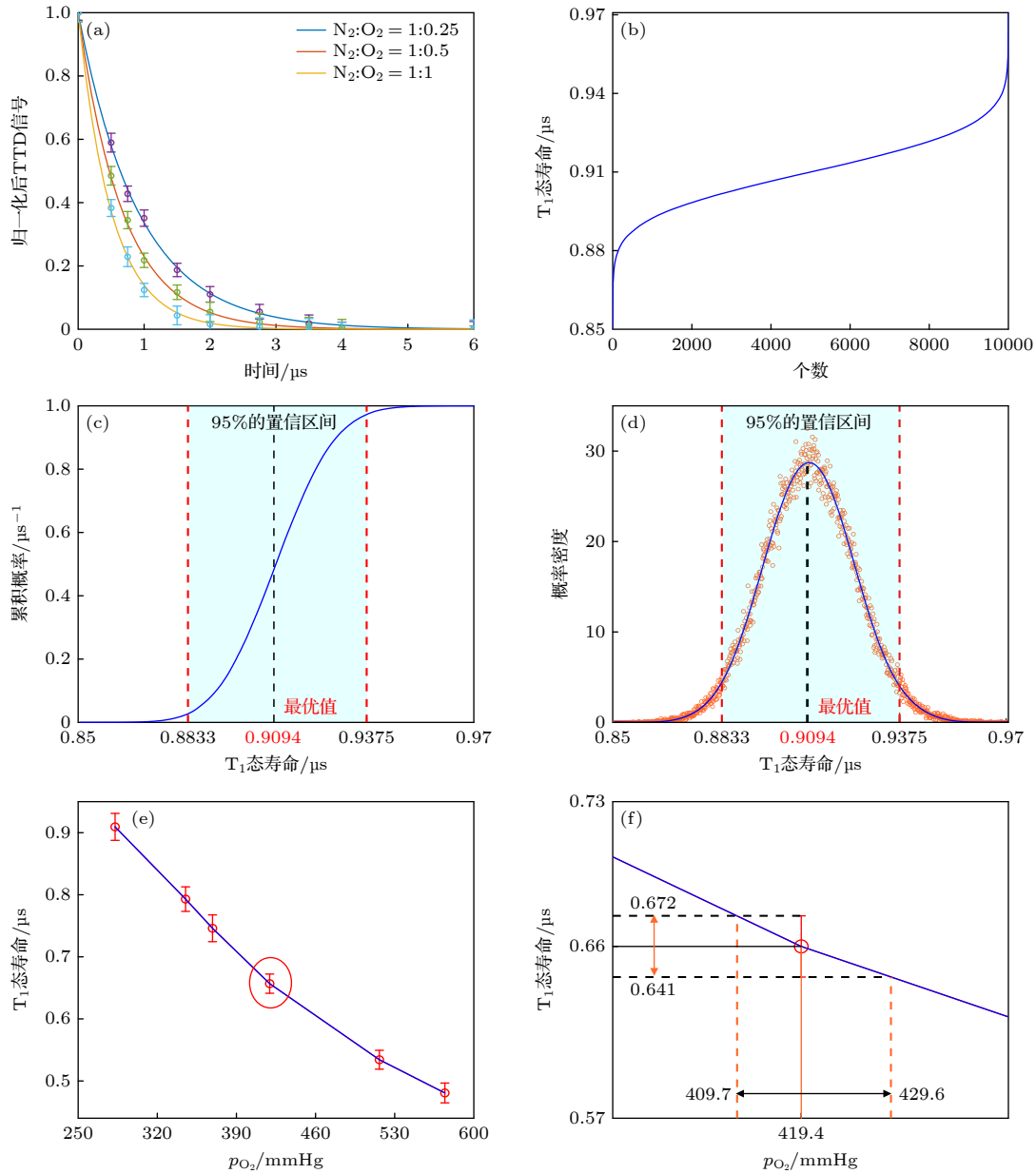


图6 不同氧分压下的测量误差分析图 (a) TTD 衰减曲线示意图; (b) T_1 态寿命累计分布图; (c) 累积概率积分曲线图; (d) 概率密度分布曲线图; (e) T_1 态寿命和氧分压的关系示意图; (f) 氮氧比为 1:1 时 T_1 态寿命和氧分压波动性示意图

Fig. 6. Measurement error analysis under different oxygen partial pressures: (a) Schematic of TTD decay curve; (b) cumulative distribution of T_1 state lifetimes; (c) cumulative probability integration curve; (d) probability density distribution curve; (e) schematic of the relationship between T_1 state lifetime and oxygen partial pressure; (f) illustration of T_1 state lifetime fluctuation with oxygen partial pressure at nitrogen-to-oxygen ratio of 1:1.

由于 p_{O_2} 检测依赖于 TTD 衰减的拟合, 因此所测 p_{O_2} 的准确性与 TTD 信号波动性之间的关系较为复杂. 为此, 本文以实验数据为基础, 通过数值仿真的方法来对 p_{O_2} 检测的误差进行分析. 从结果可以看出, 本文中的光声泵浦系统在不同的氧浓度下, 其 p_{O_2} 检测的误差均在 6% 之内. 值得注意的是, 该结果仅考虑了 TTD 信号波动性的影响, 即本文主要考虑的是激光能量稳定性以及光声信

号本身的涨落的影响. 在实际检测中, 样品的制备以及人员测量误差也会影响测量结果, 这些因素的影响需要在以后的实验中进一步研究.

本文的研究结果将有助于对基于光声泵浦的氧分压测量方法的理解, 并为该技术的进一步优化和实际应用提供指导. 例如在光动力治疗中, 光声泵浦成像技术有望对深层组织的光敏剂和 p_{O_2} 变化进行实时无损成像监测, 从而通过术中治疗光的实

时调整,提高光动力治疗效果并减少副作用.因此,对光声泵浦成像方法成像精度和准确性的研究,将有助于对成像速度、泵浦-探测延迟时间,及其他相关监测参数的优化,以及对所得光敏剂和 p_{O_2} 图像的理解,从而有助于进行合理的治疗干预决策,助力个体化的精准诊疗.虽然本文仅通过仿体实验,对基于光声泵浦的氧分压监测方法进行初步的定量研究,但建立的相关理论框架和数据分析方法,将可用于后续的在体研究中.

5 结 论

光声泵浦成像通过差分探测的方法获得探针分子激发态信号,进而通过衰减分析获得样本中的氧分压.这个过程需要经过多个复杂的信号处理步骤.为了定量研究该方法,本文搭建了一套基于光声泵浦的氧分压监测系统,并通过高斯噪声模型,首次建立了基于光声泵浦的氧分压测量误差分析方法,并分析了系统对掺有亚甲基蓝的血红蛋白溶液在不同氮氧比下的氧分压测量误差.结果表明,该系统在 200 次样本平均条件下,在 300—550 mmHg 的氧分压区间内,其检测误差范围保持在 6% 以下.本文相关研究结果将推动光声泵浦技术的进一步发展和应用.

参考文献

- [1] Attia A B E, Balasundaram G, Moothanchery M, Dinish U S, Bi R, Ntziachristos V, Olivo M 2019 *Photoacoustics* **16** 100144
- [2] Wang S, Lin J, Wang T F, Chen X Y, Huang P 2016 *Theranostics* **6** 2394
- [3] Yao J J, Wang L V 2018 *Curr. Opin. Chem. Biol.* **45** 104
- [4] Li L, Wang L V 2021 *BME Front.* **2021** 9823268
- [5] Weber J, Beard P C, Bohndiek S E 2016 *Nat. Methods* **13** 639
- [6] Tan J W Y, Lee C H, Kopelman R, Wang X D 2018 *Sci. Rep.* **8** 9290
- [7] Sud D, Zhong W, Beer D G, Mycek M A 2006 *Opt. Express* **14** 4412
- [8] Shao Q, Ashkenazi S 2015 *J. Biomed. Opt.* **20** 036004
- [9] Ashkenazi S, Huang S W, Horvath T, Koo Y E, Kopelman R 2018 *J. Biomed. Opt.* **13** 034023
- [10] Jo J, Lee C H, Folz J, Tan J W Y, Wang X D, Kopelman R 2019 *ACS Nano* **13** 14024
- [11] Wang B, Xie Y, He X, Jiang J S, Xiao J Y, Chen Z Y 2022 *Opt. Express* **30** 39129
- [12] Correia J H, Rodrigues J A, Pimenta S, Dong T, Yang Z C 2021 *Pharmaceutics* **13** 1332
- [13] Li L, Zhu L R, Ma C, Lin L, Yao J J, Wang L D, Maslov K, Zhang R Y, Chen W Y, Shi J H, Wang L V 2017 *Nat. Biomed. Eng.* **1** 0071
- [14] Gao L, Zhang C, Li C Y, Wang L V 2013 *Appl. Phys. Lett.* **102** 193705
- [15] Zhao W A, Ali M M, Brook M A, Li Y F 2008 *Angew. Chem. Int. Ed.* **47** 6330
- [16] Gao X Y, Li J H 2022 *Sci. China Chem.* **52** 1609 (in Chinese) [高晓怡, 李景虹 2022 *中国科学: 化学* **52** 1609]
- [17] Orth K, Beck G, Genze F, Rück A 2000 *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **57** 186
- [18] Grande M P D, Miyake A M, Nagamine M K, Leite J V P, da Fonseca I I M, Massoco C O, Dagli M L Z 2022 *Photodiagn. Photodyn.* **37** 102635
- [19] Al-Talib M, Al Kadiri M, Al-Masri A Q 2020 *Commun. Stat. Theory Methods* **49** 5627
- [20] Lee D K, In J, Lee S 2015 *Korean. J. Anesthesiology* **68** 220
- [21] Schillaci M A, Schillaci M E 2022 *Evol. Hum. Behav.* **171** 103230.
- [22] Thistleton W J, Marsh J A, Nelson K, Tsallis C 2007 *IEEE Trans. Inf. Theory* **53** 4805

Quantitative analysis of oxygen partial pressure measurements based on photoacoustic pump-probe imaging^{*}

He Xiao¹⁾ Xiao Xiao-Zhou¹⁾ He Bin²⁾ Xue Ping²⁾ Xiao Jia-Ying^{1)†}

1) (*Department of Biomedical Engineering, School of Basic Medical Science, Central South University, Changsha 410083, China*)

2) (*State Key Laboratory of Low-Dimensional Quantum Physics, Department of Physics, Tsinghua University, Beijing 100084, China*)

(Received 26 June 2023; revised manuscript received 21 July 2023)

Abstract

Pump-probe-based photoacoustic imaging is an innovative technique for high-specificity molecular imaging in deep tissues. Compared with conventional photoacoustic imaging, this method effectively eliminates the interference from blood signal and other background signal, enabling the detection of subtle target molecules. Additionally, the manipulating of the time delay between the pump laser and probe laser can facilitate non-invasive mapping of oxygen partial pressure distribution within tissues. To quantify the photoacoustic pump-probe imaging, we use methylene blue as the molecular probe to monitor changes in oxygen partial pressure within a hemoglobin solution. Utilizing a Gaussian noise model, we investigate the relationship between the stability of the triplet-state difference signal and the average number, and also evaluate the error associated with measuring oxygen partial pressure. The results demonstrate that the detection accuracy of the system is better than 33 mmHg (1 mmHg = 133 Pa) in the oxygen partial pressure range of about 300 to 550 mmHg after 200 times of averaging. This research will play a significant role in guiding the further advancement and application of pump-probe-based photoacoustic imaging technology.

Keywords: pump-probe-based photoacoustic imaging, oxygen partial pressure, transient triplet-differential method, quantitative analysis

PACS: 81.70.Cv, 78.20.Pa, 06.20.Dk

DOI: [10.7498/aps.72.20231041](https://doi.org/10.7498/aps.72.20231041)

^{*} Project supported by the Open Research Fund Program of the State Key Laboratory of Low-Dimensional Quantum Physics, China (Grant No. KF202209), the Natural Science Foundation of Hunan Province, China (Grant No. 2022JJ30756), the Innovation-Driven Project of Central South University, China (Grant No. 2020CX004), and the Department of Science and Technology Innovation Committee of Shenzhen, Free Exploration of Fundamental Research Program, China (Grant No. 2021Szvup168).

[†] Corresponding author. E-mail: jiayingxiao@csu.edu.cn



基于光声泵浦成像的氧分压测量定量分析

何霄 肖小舟 何滨 薛平 肖嘉莹

Quantitative analysis of oxygen partial pressure measurements based on photoacoustic pump-probe imaging

He Xiao Xiao Xiao-Zhou He Bin Xue Ping Xiao Jia-Ying

引用信息 Citation: *Acta Physica Sinica*, 72, 218101 (2023) DOI: 10.7498/aps.72.20231041

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7498/aps.72.20231041>

当期内容 View table of contents: <http://wulixb.iphy.ac.cn>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

氧分压对Ni/HfO_x/TiN阻变存储单元阻变特性的影响

Influences of different oxygen partial pressures on switching properties of Ni/HfO_x/TiN resistive switching devices

物理学报. 2018, 67(5): 057301 <https://doi.org/10.7498/aps.67.20172194>

基于自吸收量化的激光诱导等离子体表征方法

Laser-induced plasma characterization using self-absorption quantification method

物理学报. 2018, 67(16): 165201 <https://doi.org/10.7498/aps.67.20180374>

不同温度压力对浓度反演精度的定量分析

Quantitative analysis of accuracy of concentration inversion under different temperature and pressure

物理学报. 2021, 70(7): 073201 <https://doi.org/10.7498/aps.70.20201672>

大质量样品厚度对 neutron 活化定量分析的影响和修正

Influence of mass sample thickness on quantitative analysis of neutron activation and its modification

物理学报. 2019, 68(8): 082801 <https://doi.org/10.7498/aps.68.20182069>

铋黄铜中微量元素的高重复频率激光剥离-火花诱导击穿光谱定量分析

Quantitative analysis of trace elements in bismuth brass with high repetition rate laser-ablation spark-induced breakdown spectrum

物理学报. 2021, 70(10): 104206 <https://doi.org/10.7498/aps.70.20202018>

基于声学扫描振镜的超声/光声双模态成像技术

Ultrasound/photoacoustic dual-modality imaging based on acoustic scanning galvanometer

物理学报. 2022, 71(5): 050701 <https://doi.org/10.7498/aps.71.20211394>