

文章编号: 1001-3806(2005)04-0420-03

直接和间接法测量人膀胱对激光的总衰减系数

魏华江¹, 邢 达^{1*}, 鲁建军², 沈行燕¹, 巫国勇²

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

摘要: 利用积分球系统以及采用直接和间接法测量了人正常膀胱和膀胱癌组织对 476.5nm, 488nm, 496.5nm, 514.5nm, 532nm 和 808nm 激光及其线偏振激光的总衰减系数。结果表明, 在这 6 个波长范围内, 采用直接和间接法所得到的膀胱或膀胱癌组织对激光或其线偏振激光的总衰减系数均有显著性差异 ($P < 0.05$), 6 个波长的激光辐照膀胱或膀胱癌组织的总衰减系数在直接与间接法之间的差值, 均明显较其相应的线偏振激光辐照组织的总衰减系数在直接与间接法之间的差值大 ($P < 0.05$)。

关键词: 人膀胱; 人膀胱癌组织; 光学特性; 多波长激光; 积分球; 线偏振激光

中图分类号: R318.51 文献标识码: A

Total attenuation coefficients of human bladder at different lasers measured by using the direct and indirect methods in vitro

WEI Hua-jiang¹, XING Da^{1*}, LU Jian-jun², SHEN Xing-yan¹, WU Guo-yong²

(1. Institute of Laser Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China; 2. Department of Cardiothoracic Surgery, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China)

Abstract Total attenuation coefficients of normal and cancerous human bladder tissue at 476.5nm, 488nm, 496.5nm, 514.5nm, 532nm and 808nm lasers and their linearly polarized laser were determined using the direct and indirect methods and an integrating sphere system. The results show that there are significant differences in these total attenuation coefficients of normal or cancerous human bladder tissue at six different wavelengths of laser between the direct and indirect methods ($P < 0.05$), the differences in the total attenuation coefficients of normal or cancerous human bladder tissue at six different wavelengths between the direct and indirect methods are all obviously bigger than the differences in the total attenuation coefficients of normal or cancerous human bladder tissue at their linearly polarized laser wavelengths between the direct and indirect methods ($P < 0.05$).

Key words normal human bladder tissues; cancerous human bladder tissues; optical properties; multiwavelength laser; integrating sphere; linearly polarized laser

引 言

近年来, 光学方法在医学诊断及研究上的应用已成为激光生命科学的研究热点, 测定生物组织的光学特性变得至关重要, 因为研究光子与生物组织相互作用后的光学特性^[1-3], 将极大推动医学成像、激光外科手术、激光光动力学治疗等临床应用的发展, 对探索组织的新陈代谢、生理和结构状态等也具有重要的理论和实际意义。此外, 运用偏振手段可对生物组织病变前后的偏振参数进行测量、对比和分析, 它给医疗诊断

提供了一种新的信息分析手段^[4,5]。故探讨偏振光与生物组织相互作用的光传输问题同样是十分重要和有意义的。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数的改变。从可见光到红外光的光对组织的穿透性随波长的增大而增加, 故生物组织对不同波长的光的穿透性各有不同, 即对光的衰减各有不同。生物组织对光的衰减情况是由总衰减系数来描述的, 它是组织光学的重要特性参数之一, 它的测量方法可分为直接测量法和间接测量法, 这也是最常用的、也最常引起一些讨论的两种方法。本文中的实验采用积分球系统和光辐射测量技术及组织光学模型, 测量了人正常膀胱和人膀胱癌组织对 476.5nm, 488nm, 496.5nm, 514.5nm, 532nm, 808nm 激光及其线偏振激光的总衰减系数, 并对采用直接法与间接法测量的实验结果进行分析与讨论。

基金项目: 国家重大基础研究前期专项基金资助项目 (2002CCC00400); 广东省自然科学基金资助项目 (015012)

作者简介: 魏华江 (1961-), 男, 副教授, 现主要从事激光医学和组织光学的研究工作。

* 通讯联系人。E-mail: xingda@hsut.scnu.edu.cn

收稿日期: 2004-06-16 收到修改稿日期: 2004-12-14

1 材料与方法

1.1 样品的制备

实验用手术切除的人新鲜离体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,全过程即从样品切除到实验完成在 4h 内。制备方法是用生理盐水冲洗干净样品表面的血液等,剥去样品外侧的其它组织,膀胱和膀胱癌样品面积均为 18.5mm × 18.5mm 的面积,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。将样品平展于圆孔并夹着固定样品,然后放置于积分球光学系统的样品池用于测量,样品夹的设计与加工方法参见文献 [6]。

1.2 测量薄组织的总衰减系数的实验系统

实验系统的组成为:全固态连续钛宝石激光系统 (COHERENT, model 899-05 U. S. A.), 调节钛宝石激光系统输出 808nm 激光及其抽运激光 532nm 作实验用激光以及氩离子激光器 (COHERENT, model NNOVA 70 U. S. A.) 并调节激光器输出 476.5nm, 488nm, 496.5nm, 514.5nm 激光、光衰减片、2mm 光阑、25 倍扩束器、偏振片、1mm 光阑、中国科学院安徽光学精密机械研究所产的光学积分球探测器。如图 1 所示。其中: 1 表

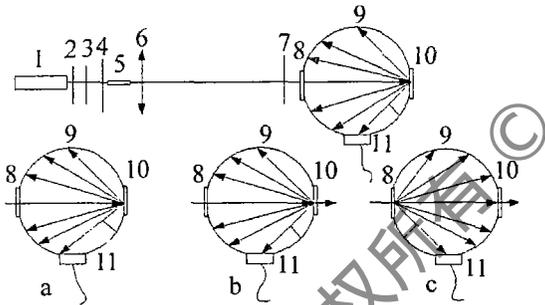


Fig 1 Experimental set up consisting of double integrating sphere with an intervening sample

示激光器、2 和 3 都表示光衰减片、4 表示 2mm 光阑、5 表示 25 倍扩束器、6 表示偏振片、7 表示 1mm 光阑、8 表示积分球的光入射窗、9 表示积分球、10 表示积分球的样品窗、11 表示光电探测器,图 1a 表示用于测量总反射率和透射率的积分球测量装置,图 1b 表示用于测量漫反射率、样品的镜面反射率的积分球测量装置,图 1c 表示用于测量漫透射率、样品的准直透射率的积分球测量装置。积分球腔内直径为 50mm,样品窗及光入射窗或出光窗的直径都为 12mm。调节光路使激光的光束通过衰减片作适当的衰减,通过孔径为 2mm 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 1mm 的光阑,并以与光轴成角度 0.17 入射到组织。

采用的实验方法为直接测量法^[7]和间接测量

法^[8,9],本文中着重介绍间接法利用 Kubelka-Munk 二流模型,由实验测出漫反射系数 R_d 和漫透射系数 T_d 以及样品厚度 d ,则可计算出散射系数 S_{KM} 和吸收系数 A_{KM} ^[10],再由 $\mu_t = \mu_a + \mu_s$ 和文献 [11],可间接得到总衰减系数。总反射量和透射量的测量方法如图 1a 所示,在积分球的出光窗处加入漫反射标准板。样品的漫反射率和镜面反射率的测量方法在图 1b 中所示,入射光垂直于样品窗入射,其计算方法见文献 [6], [12]。漫透射率和准直透射率的测量方法在图 1c 中所示,入射光垂直于样品窗入射,不加漫反射标准板,其计算方法见文献 [6], [12]。组织的总衰减系数的计算请参见文献 [6], [12],激光对样品两个侧面分别辐照一次。

1.3 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 SPSS 作统计处理,采用 t 检验。

2 结果与分析

实验以 6 个波长的激光及其线偏振激光对两种组织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 作处理。实验测得 6 个波长的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。

下面将直接法与间接法测得人膀胱和膀胱癌组织的总衰减系数进行比较。6 个波长的激光和线偏振激光辐照两种样品组织并采用直接法和间接法得出样品组织的总衰减系数列于表 1 和表 2 中,表中, μ_{t1} 为激光辐照组织直接法测得的总衰减系数、 μ_{t2} 为激光辐照组织间接法测得的总衰减系数、 μ_{t3} 为线偏振激光辐照组织直接法测得的总衰减系数、 μ_{t4} 为线偏振激光辐照组织间接法测得的总衰减系数。结果表明:采用直接法与间接法在以激光及其线偏振激光辐照下,人正常膀胱和膀胱癌组织样品的总衰减系数均有差异,下面作详细的讨论。

Table 1 Total attenuation coefficients of human normal bladder tissue at six wavelengths of laser and their linearly polarized laser irradiation are determined using the direct and indirect methods

λ / nm	$\mu_{t1} / \text{cm}^{-1}$	$\mu_{t2} / \text{cm}^{-1}$	$\mu_{t3} / \text{cm}^{-1}$	$\mu_{t4} / \text{cm}^{-1}$
476.5	78.9 ± 0.312	23.9 ± 0.22	73.8 ± 0.282	25.9 ± 0.24
488	70.6 ± 0.219	23.2 ± 0.21	64.9 ± 0.233	23.5 ± 0.21
496.5	60.7 ± 0.213	21.6 ± 0.18	55.6 ± 0.181	24.2 ± 0.22
514.5	51.6 ± 0.217	19.2 ± 0.15	47.8 ± 0.173	25.1 ± 0.23
532	44.9 ± 0.115	27.8 ± 0.14	42.3 ± 0.114	28.5 ± 0.15
808	12.8 ± 0.028	11.6 ± 0.07	10.4 ± 0.023	11.1 ± 0.07

Table 2 Total attenuation coefficients of human bladder cancer tissue at six wavelengths of laser and their linearly polarized laser irradiation are determined using the direct and indirect methods

λ/nm	μ_{t1}/cm^{-1}	μ_{t2}/cm^{-1}	μ_{t3}/cm^{-1}	μ_{t4}/cm^{-1}
476.5	491 ± 11.3	50.5 ± 0.32	467 ± 10.9	46.6 ± 0.25
488	422 ± 10.2	49.5 ± 0.29	412 ± 9.23	49.2 ± 0.30
496.5	368 ± 10.2	47.2 ± 0.27	345 ± 8.22	50.4 ± 0.31
514.5	351 ± 10.1	48.7 ± 0.28	321 ± 8.13	47.8 ± 0.24
532	312 ± 8.71	85.9 ± 0.48	302 ± 7.61	79.7 ± 0.41
808	111 ± 3.12	22.1 ± 0.12	99.1 ± 0.371	21.7 ± 0.10

3 讨 论

从实验结果可见,采用直接测量法和间接测量法所得到的人正常膀胱或人膀胱癌组织样品的总衰减系数在这 6 个激光波长范围内均有明显差异 ($P < 0.05$),以激光与其相应波长的线偏振激光辐照人正常膀胱或人膀胱癌组织样品所得的总衰减系数在这 6 个激光波长范围内均有明显差异 ($P < 0.05$),在这 6 个激光波长范围内,以激光辐照人正常膀胱或人膀胱癌组织样品的总衰减系数在直接法与间接法之间的差值,均明显较其相应波长的线偏振激光辐照人正常膀胱或人膀胱癌组织样品的总衰减系数在直接法与间接法之间的差值要大 ($P < 0.05$)。在这 6 个波长范围内采用直接法所测得人正常膀胱或人膀胱癌组织样品的总衰减系数是随着波长的减小而明显增大,而采用间接法所得到的人正常膀胱或人膀胱癌组织样品的总衰减系数在这 6 个波长范围内,除了 532nm 的总衰减系数之外,是随着波长的减小而明显增大的。可见,在这 6 个激光波长范围内,采用直接法与间接法所得到的人正常膀胱或人膀胱癌组织样品的总衰减系数是有明显差异的,这是由于直接法其本质上就是采用 Beer-Lambert 定理,它是在忽略了样品组织内的漫射光的情况下获得样品组织的总衰减系数的。而间接法是采用 Kubelka-Munk 二流模型,它是在忽略了样品组织内的

相干光的情况下获得样品组织的总衰减系数的,因而导致所得结果产生了差异。而以线偏振激光辐照这两种组织样品能缩小两种测量方法所得结果之间的差异。这是由于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],提高测量准直透射光的精确度,导致所得结果的准确度提高了。

参 考 文 献

- [1] GHOSH N, MOHANTY SK, MAJUMDER SK. Measurement of optical transport properties of normal and malignant human breast tissue [J]. *Appl Opt* 2001, 40(1): 176~184
- [2] 李步洪, 谢树森, 陆祖康. 光动力学疗法新型光敏剂的光谱特性研究 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2002, 22(6): 902~904
- [3] 陈 荣, 谢树森, 陈艳娇 *et al* 中国人血液的组织光学参数 [J]. *光电子·激光*, 2002, 13(1): 92~93, 97
- [4] SANKARAN V, EVERETT M, JAMAHLAND D J *et al* Comparison of polarized light propagation in biological tissue and phantoms [J]. *Opt Lett* 1999, 24(15): 1044~1046
- [5] QU J, MACAULAY C, PAM S *et al* Optical properties of normal and carcinomatous bronchial tissue [J]. *Appl Opt* 1994, 33(31): 7397~7405
- [6] 魏华江, 邢 达, 巫国勇 *et al* 532nm 和 808nm 激光及其线偏振激光辐照人正常膀胱癌组织光学特性 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2003, 30(2): 209~215
- [7] FLOCK S T, WILSON B C, PATTERSON M S Total attenuation coefficients and scattering phase functions of tissues and phantom materials at 633nm [J]. *Med Phys* 1987, 14(5): 835~841
- [8] GRAAFF R, AARNOUDSE J G, deMUL F F M. Light propagation parameters for anisotropically scattering media based on a rigorous solution of the transport equation [J]. *Appl Opt* 1989, 28(12): 2273~2279
- [9] SEYAMA A, CHEN S S, KOSAKA H *et al* Microspectroscopic measurement of the optical properties of rat liver in the visible region [J]. *Journal of Microscopy* 1994, 175(1): 84~89
- [10] VOGEL A, DLUGOS C, NUFFER R *et al* Optical properties of human sclera and their consequences for transscleral laser applications [J]. *Lasers Surg Med* 1991, 11(10): 331~340
- [11] CHEONG W F, PRAHL S A, WELCH A J A review of the optical properties of biological tissues [J]. *IEEE J Q E*, 1990, 26(12): 2166~2185
- [12] 魏华江, 李晓原, 刘小星 *et al* KM 模型下的兔血管对 Ar⁺ 激光的散射与吸收特性 [J]. *光电子·激光*, 2001, 12(4): 421~424

(上接第 400 页)

参 考 文 献

- [1] 谢永杰, 刘晶儒, 赵学庆. CF 中光束平滑及靶面辐照均匀性技术评述 [J]. *激光技术*, 2001, 25(6): 454~459.
- [2] LAUMANN C W, CARL J A, SMITH J R *et al* Development of third harmonic output beam diagnostics on Nova [J]. *Proc SPIE*, 1991, 1414: 151~160.
- [3] TOUZET B, FLAMAND J, THEVENON A *et al* Focusing transmission gratings for high energy lasers [J]. *Proc SPIE*, 1999, 3492: 151~160.
- [4] BRITTON J A, BOYD R D, PERRY M D *et al* Low efficiency gratings for 3rd harmonic diagnostics applications [J]. *Proc SPIE*, 1995, 2633: 121~128.
- [5] 于美文. 光全息学及其应用 [M]. 北京: 北京理工大学出版社, 1996: 88~90.
- [6] 刘 全, 吴建宏. 光栅的数量衍射理论与耦合理论的分析比较 [J]. *激光杂志*, 2004, 25(2): 31~34.
- [7] MOHARAM M G, GAYLORD T K. Rigorous coupled wave analysis of planar gratings diffraction [J]. *JOSA*, 1981, 71(7): 811~818.
- [8] MOHARAM M G, GAYLORD T K. Diffraction analysis of dielectric surface-relief gratings [J]. *JOSA*, 1982, 72(10): 1385~1392.
- [9] MOHARAM M G, GRANN E B, POMMET D A *et al* Formulation for stable and efficient implementation of the rigorous coupled wave analysis of binary gratings [J]. *JOSA*, 1995, A12(5): 1068~1076.