

بهبود روش اکسیمتری دو طول موجی فاندوس برای اندازه گیری کمی اشباع اکسیژن شبکیه در فانتوم معادل چشم با استفاده از الگوریتم دیفیوژن مستقل از زمان اکسیژن

خلاصه

مقدمه: بیماری‌های عروقی شبکیه علت اصلی از دست دادن بینایی در سراسر جهان است. اکسیمتری روشی است که می‌توان با اندازه‌گیری اشباع اکسیژن خون در عروق شبکیه اطلاعات مفیدی از عملکرد این عروق به دست آورد. صحت عملکرد اکسیمتری می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار بگیرد و منجر به برآورد اشتباه دانسیته نوری گردد. مطالعات شبیه‌سازی اخیر نشان داد که خطای اندازه‌گیری اشباع اکسیژن می‌تواند تا ۲۰ درصد باشد. بنابراین هدف از انجام این طرح بررسی فرضیه مبادله اکسیژن با بافت شبکیه با استفاده از مدل وانگ، برای بهبود دقت محاسبات اشباع اکسیژن در اکسیمتری شبکیه می‌باشد.

روش بررسی: برای بررسی قابلیت سیستم اکسیمتری اجرا شده نیاز به یک فانتوم معادل چشم انسان بود که توسط پرینتر سه بعدی ساخته شد. پس از تصویربرداری از فانتوم، با توجه به رابطه خطی بین اشباع اکسیژن و نسبت دانسیته نوری تصاویر، درصد اشباع اکسیژن هر یک از نمونه‌ها محاسبه گردید.

یافته‌ها: میانگین انحراف استاندارد برای اندازه‌گیری‌های مکرر نسبت دانسیته نوری ۲/۶۹ درصد بود. در هر مورد، انحراف استاندارد در دو تصویر به دست آمد و سپس در میان تمام نمونه‌ها میانگین گرفته شد. میانگین اشباع اکسیژن حاصل از نسبت دانسیته نوری تصاویر خون شریانی داخل لوله‌های مویین 0.8 ± 0.09 (انحراف استاندارد \pm میانگین) بود. تفاوت معنی‌داری در گروه مشاهده شد ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی مبتنی بر فرضیه تبادلات اکسیژن با بافت شبکیه است که سبب بهبود صحت عملکرد سیستم اکسیمتری دو طول موجی فاندوس برای محاسبه اشباع اکسیژن شد. فانتوم طراحی شده قابلیت استفاده در سیستم اجرا شده و تجزیه و تحلیل داده‌ها را دارا بود. تکرارپذیری نسبت دانسیته نوری اندازه‌گیری شده ۰/۵ درصد بود.

واژه‌های کلیدی: اکسیمتری فاندوس دو طول موجی، عروق شبکیه، اشباع اکسیژن، اکسیمتری نوری

مریم صادقی فر^۱
مرجانه حجازی^۲
علیرضا رضانی^۳
حمید احمدی^۴
سارا مشعل‌چی‌زاده^۱

۱. کارشناسی ارشد، گروه فیزیک و مهندسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲. دانشیار، گروه فیزیک و مهندسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳. دانشیار، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴. استاد، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

نویسنده مسئول: مرجانه حجازی، تلفن: ۰۹۱۲۴۸۴۱۳۳۹
پست الکترونیک: mhejazi@sina.tums.ac.ir

مقدمه

بیماری‌های عروقی شبکیه علت اصلی از دست دادن بینایی در سراسر جهان است. اندازه‌گیری موضعی اشباع اکسیژن خون در عروق ریز برای مشاهده و تشخیص پیشرفت بیماری‌ها بسیار با ارزش است [۱].

اکسیمتری روشی است که با اندازه‌گیری اشباع اکسیژن خون در عروق شبکیه می‌تواند بینش مفیدی از پیشرفت انواع بیماری‌ها و شرایط مرتبط با اختلالات قلب و عروق مانند دیابت، گلوکوما و انسداد عروق شبکیه را فراهم کند [۲]. شناسایی مشخصه‌های طیفی دو کروموفور اصلی خون یعنی هموگلوبین و اکسی‌هموگلوبین از اهمیت زیادی برخوردار است. طبق گزارش‌های ارائه‌شده در سال ۲۰۱۰، ۱۸۵ میلیون نفر در سراسر جهان به علت بیماری‌های شبکیه نابینا شدند [۲] که تغییرات در جریان خون و میزان اکسیژن در ایجاد این بیماری‌ها دخیل بوده است [۳ و ۴]. بنابراین متابولیسم اکسیژن شبکیه یک فاکتور کلیدی در شناخت بیماری‌های چشمی است [۵-۸] و می‌تواند به عنوان یک روش غربالگری اولیه مورد استفاده قرار گیرد. دو پارامتر اصلی برای انجام این کار، اندازه‌گیری میزان جریان خون و اشباع اکسیژن شبکیه می‌باشد. چالش عمده‌ای که مانع این غربالگری می‌گردد، فقدان یک روش درست برای اندازه‌گیری دقیق اشباع اکسیژن شبکیه می‌باشد [۱۳-۱۱]. درصد اشباع اکسیژن عروق شبکیه را می‌توان با روش‌های تهاجمی و یا غیرتهاجمی اندازه‌گیری کرد. یکی از این روش‌های غیرتهاجمی، اکسیمتری دو طول موجی فاندوس است. این تکنیک بر اساس میزان تفاوت طیف جذبی اکسی‌هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین با اندازه‌گیری شدت نور انعکاسی از شبکیه در دو طول موج مختلف عمل می‌کند. از تصاویر به دست آمده از عروق شبکیه می‌توان نسبت دانسیته نوری عروق را در هر طول موجی محاسبه کرد.

هدف تحقیقات بالینی یافتن روش‌های غیرتهاجمی است که می‌تواند کمبود اکسیژن را به صورت مستقیم اندازه‌گیری کند [۱۴]. پایش تغییرات اشباع اکسیژن خون در شبکیه می‌تواند مصرف اکسیژن در شبکیه، سطح قند خون و عملکرد عروق ریز در بیماری رتینوپاتی دیابتی را ارزیابی کند [۱۵ و ۱۶]. بنابراین این مهم است که اشباع اکسیژن خون را به دست آوریم زیرا می‌توان برای نظارت بر اختلالات شبکیه از آن استفاده کرد و صحت تشخیص بیماری‌های شبکیه را بهبود بخشید. لذا، هدف از انجام این پژوهش بهبود روش اکسیمتری دو طول موجی فاندوس برای اندازه‌گیری کمی اشباع اکسیژن شبکیه در فانتوم معادل چشم با استفاده از الگوریتم دیفیوژن مستقل از زمان اکسیژن می‌باشد.

روش بررسی

این طرح در دو بخش ساخت‌افزاری و نرم‌افزاری اجرا شد. در بخش ساخت‌افزاری به بهینه‌سازی چینش اپتیکی اکسیمتری دو طول موجی

1. DWFO (Dual-Wavelength Fundus Oximetry)

فاندوس پرداخته شد. در بخش نرم‌افزاری به منظور افزایش صحت عملکرد سیستم اکسیمتری، دانسیته نوری تصاویر و میزان اشباع اکسیژن با استفاده از الگوریتم دیفیوژن مستقل از زمان اکسیژن محاسبه گردید.

بخش ساخت‌افزاری

طراحی و اجرای چینش اپتیکی

سیستم اکسیمتری دو طول موجی فاندوس طراحی شده دارای دو کانال مجزا برای ثبت همزمان دو تصویر تک‌رنگ در دو طول موج از شبکیه فانتوم معادل چشم می‌باشد. این سیستم شامل: دو دوربین تجاری یکسان (YM2300D, VGA Industrial camera, china)، لنزهای اپتیکی مشابه (LB1471-ML, Thorlabs, USA) فیلترهای تداخلی مناسب (FB550-40, FB600-40, Thorlabs, USA)، یک شکافنده نور (BS013, Thorlabs, USA) و یک عدسی شیئی (Classic BIO Lenses(20D), Volk, USA) می‌باشد. این چینش اپتیکی بر اساس الگو گرفتن از سیستم‌های اکسیمتری دو دوربین و استفاده از عدسی شیئی ساخت شرکت ولک اجرا شده است.

طراحی فانتوم معادل چشم

برای اعتبارسنجی قابلیت سیستم اکسیمتری دو طول موجی فاندوس ساخته‌شده و تجزیه و تحلیل داده‌ها نیاز به یک فانتوم معادل چشم انسان بود. بدین منظور در ابتدا بر اساس الگو گرفتن از مدل چشم ناوارو، فانتوم معادل چشمی با همان خصوصیات اپتیکی جهت استفاده در پروژه، طراحی و سپس توسط پرینتر سه‌بعدی ساخته شد. این فانتوم شامل: عدسی، شبکیه و لوله‌های موئین است. از ویژگی‌های اصلی فانتوم ساخته شده می‌توان به انطباق ابعاد آن با ابعاد واقعی چشم انسان، قابلیت پر شدن با آب که ضریب شکستی مشابه با زجاجیه چشم انسان ایجاد می‌کند، همچنین دارای عدسی با توان ۴۵ دیوپتر که مطابق با چشم انسان است و قابلیت قرار گرفتن لوله‌های موئین پر شده از خون در فانتوم وجود دارد. به منظور شبیه‌سازی عروق شبکیه برای فانتوم معادل چشم، از لوله‌های موئین استفاده شد. قطر داخلی لوله‌های موئین مورد استفاده ۰/۱۵ میلی‌متر و قطر خارجی آن‌ها ۰/۲۵ میلی‌متر می‌باشد که مشابه با عروق شبکیه چشم انسان هستند.

اندازه‌گیری تابع انتقال مدولاسیون سیستم

به منظور تعیین رزولوشن سیستم اکسیمتری دو طول موجی فاندوس از صفحه USAF1951, USA, Thorlabs استفاده شد. این صفحه دارای ۶ گروه و ۶ المان در دو راستای افقی و عمودی است که در مجموع می‌توان گفت از ۷۲ جفت خط تشکیل شده‌اند که هر یک با یک المان و گروه خاصی مشخص شده است. به منظور رسم تابع انتقال مدولاسیون برای سیستم تصویربرداری اکسیمتری دو طول موجی فاندوس طراحی شده،

جدول ۱: غلظت سدیم دی تیونیت مورد نیاز برای کاهش اشباع اکسیژن خون

میزان غلظت سدیم دی تیونیت (میلی گرم بر میلی لیتر خون)	درصد اشباع اکسیژن خون (%SO ₂)
0.00	100
0.17	90
0.33	80
0.53	70
0.61	60
1.00	50
1.30	40
1.60	30
1.90	20
2.25	10

بخش نرم‌افزاری

پیش‌پردازش سیستم

بسیاری از عوامل از جمله: عدم فوکوس مناسب یا تغییرات در سطح بازتابش نور سبب ایجاد نوردهی غیریکنواخت تصاویر ثبت شده می‌گردد. بنابراین پیش‌پردازش تصاویر در سیستم اکسیمتری دو طول موجی فاندوس امری مهم و ضروری محسوب می‌شود. چون تصاویر از قسمت‌های مختلف شبکیه به دست می‌آیند، ممکن است دارای اختلافاتی در شدت پیکسل‌ها یا روشنایی پس‌زمینه باشند، بنابراین به منظور یکنواخت‌سازی شدت پس‌زمینه تصاویر یکنواخت پیش‌پردازش انجام می‌گیرد. در این بخش از طرح، به منظور یکنواخت‌سازی شدت پس‌زمینه، حذف نویز و افزایش کنتراست تصاویر از کدها و دستورات رایج نرم‌افزار متلب استفاده شد.

محاسبه دانسیته نوری تصاویر

این روش شامل استفاده از الگوریتم ردیابی عروق برای محاسبه دانسیته‌های نوری در عروق شبکیه و اندازه‌گیری بازتاب عروق و بافت اطراف شبکیه می‌باشد. به منظور محاسبه دانسیته نوری تصاویر، نیاز به ثبت دو تصویر همزمان از شبکیه در دو طول موج بود یک تصویر باید در طول موج isobestic هموگلوبین ثبت می‌گردد و طول موج دیگر به گونه‌ای انتخاب می‌شد که ضرایب جذب اکسی هموگلوبین و دی‌اکسی هموگلوبین تفاوت زیادی باهم داشته باشند.

پس از دریافت تصاویر شبکیه در دو طول موج ۵۷۰ و ۶۱۰ نانومتر با استفاده از کدهای نرم‌افزار متلب پروفایل مناسب برای هر یک از عروق

صفحه تعیین رزولوشن USAF1951 در محل جسم (فانتوم معادل چشم) و مقابل چپش اپتیکی قرار داده شد و تصویربرداری صورت گرفت. پس از تصویربرداری از این قطعه اپتیکی، هریک از جفت خطها از تصویر جدا شدند و با استفاده از نرم‌افزار متلب شدت بیشینه و کمینه آنها به دست آمد. بدین ترتیب ام‌تی‌اف تمامی جفت خطها با استفاده از فرمول ام‌تی‌اف به دست آمد. برای محاسبه رزولوشن هریک از جفت خطها در صفحه تعیین رزولوشن از رابطه زیر استفاده می‌شود:

$$(1) \quad \left(\frac{1 - \text{شماره المان}}{6} + \text{شماره گروه} \right) \times 2 = \text{فرکانس مکانی}$$

بدین ترتیب، X و Y هر یک از جفت خطها که نشان دهنده یک نقطه خاص در صفحه هستند، مشخص گردید. از مجموع این نقاط، نمودار ام‌تی‌اف توسط نرم‌افزار متلب رسم گردید.

آنالیز خون با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری گازهای خون شریانی

برای بررسی صحت سیستم اکسیمتری دو طول موجی فاندوس اجرا شده، در ابتدا ۴ نمونه خون انسانی تهیه و سپس توسط دستگاه اندازه‌گیری گازهای خون شریانی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. آنالیز گازهای خون شریانی تمام نمونه‌های انسانی مورد استفاده در این پروژه توسط دستگاه ABG مدل GEM 3000 بیمارستان قلب صورت گرفت. همچنین به منظور به حداقل رساندن خطا، اندازه‌گیری‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد که مطابق با دمای طبیعی بدن انسان می‌باشد، انجام شد. برای کاهش میزان اشباع اکسیژن در نمونه خون‌های تهیه شده یک روش دقیق ضروری است. کریستال سدیم دی-تیونیت ماده‌ای است که اغلب برای کاهش میزان اشباع اکسیژن مورد استفاده قرار می‌گیرد. فرمول شیمیایی این ماده Na₂O₄S₂ می‌باشد و با نام‌های بلانکیت یا جوهرقند نیز شناخته می‌شود. این ماده تنها سبب کاهش اشباع اکسیژن به صورت خارجی می‌گردد در نتیجه ساختار و عملکرد غشای سلولی نسبتاً بدون تغییر باقی می‌ماند.

درابتدا، هرکدام از نمونه‌ها به سه قسمت مساوی از خون تقسیم شدند. سپس به هریک از واحدهای تقسیم شده مقدار مناسبی از کریستال سدیم دی تیونیت مطابق با جدول ۱ اضافه گردید تا میزان اشباع خون نمونه‌ها کاهش یابد. پس از حل شدن کریستال در نمونه‌ها و گذشت زمان مناسب، جهت اطمینان از کاهش اشباع اکسیژن خون، دوباره هرکدام از نمونه‌ها توسط دستگاه اندازه‌گیری گازهای خون شریانی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

پس از بررسی میزان اشباع اکسیژن کاهش یافته توسط کریستال سدیم دی تیونیت، نمونه خون‌ها به لوله‌های موبین تزریق شد و داخل فانتوم معادل چشم قرار گرفتند و تصویربرداری آغاز شد. به منظور ارزیابی تکرارپذیری، ۱۰ اندازه‌گیری متوالی از هریک از نمونه خون‌ها که در ابتدا دارای اشباع اکسیژن صددرصد بود، صورت گرفت.

b برابر با میانگین انحراف استاندارد دانسیته نوری تصاویر به دست آمده است. با قرار دادن هر یک از مقادیر a و b در معادله و نسبت دانسیته نوری هر یک از تصاویر به دست آمده می‌توان میزان اشباع اکسیژن هر یک از نمونه‌های خون را برآورد کرد.

استفاده از الگوریتم دیفیوژن مستقل از زمان اکسیژن

به دلیل حضور اکسیژن درون ناحیه‌ای از بافت، اکسیژن در داخل عروق و بافت اطراف در هر دو جهت شعاعی و محوری منتقل می‌شود. ما فرضیه‌های زیر را در مورد انتشار اکسیژن در نظر گرفته‌ایم:

۱. سلول‌های قرمز خون به طور پراکنده در پلازما توزیع می‌شوند.

۲. فرض شده است اندوتلیوم مویرگی هیچ‌گونه مقاومتی در برابر انتقال اکسیژن ارائه نمی‌کند، بنابراین منحنی اکسیژن به صورت مداوم متصل است و انتقال در سراسر این اتصال می‌تواند توسط قانون اول فیک^۲ شرح داده شود.

۳. زمان واکنش برای انتشار اکسیژن از سلول‌های قرمز خونی در مقایسه با زمان لازم برای انتشار در داخل عروق بسیار ناچیز است در نتیجه تعادل شیمیایی در عروق، بین محلول اکسیژن و اکسی‌هموگلوبین وجود دارد و معادله هیل^۳ می‌تواند برای نشان دادن این رابطه مناسب باشد.

۴. جریان خون فقط در جهت Z است.

۵. تابش نوردهی یکنواخت است که بر اساس عمق نور، ابعاد و فاصله بین عروق که در اینجا مورد توجه قرار می‌گیرد، توجیه می‌شود.

بر اساس فرضیات ذکر شده در بالا در مورد انتشار اکسیژن، مبنای این الگوریتم استفاده از اصلاحات ارائه شده توسط وانگ و استفاده از معادله Hill و Fick است. شکل ۱ ماثول استوانه‌ای عروق است که در نظر گرفته شد و در آن Z و I مختصات محوری و شعاعی هستند. خون از طریق مویرگ در Z = 0 جریان دارد. اکسیژن همراه با هموگلوبین در سلول‌های قرمز خون توسط جریان خون حمل و به عروق منتقل می‌شود که این می‌تواند به دلیل موازنه غلظت محلول اکسیژن باشد.

Z و I مختصات محوری و شعاعی هستند. خون از طریق عروق در Z = 0 جریان دارد. اکسیژن در هر دو جهت شعاعی و محوری منتشر می‌شود. حلقه داخل استوانه نشان‌دهنده یک حجم پوسته واحد است.

با در نظر گرفتن شرایط اولیه به بررسی دیفیوژن مستقل از زمان اکسیژن در دو حالت، انتشار محوری و بدون در نظر گرفتن انتشار محوری پرداخته شد. شکل ۲ شبکه فضایی سیستم عروقی در نظر گرفته شده را نشان می‌دهد. بدین منظور از روش Gauss-sidel برای پردازش‌های تکراری استفاده شد. بدین صورت که با جایگزینی مقادیر جدید به جای مقادیر

رسم گردید. از اطلاعات به دست آمده توسط الگوریتم، دانسیته نوری هر یک از تصاویر نمونه‌های خون که در دو طول موج متفاوت ثبت شدند، طبق رابطه زیر به دست آمد:

$$OD_{\lambda} = -\text{Log}_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right) \quad (2)$$

سپس برای محاسبه نسبت دانسیته نوری تصاویر از رابطه زیر استفاده شد:

$$ODR = \frac{OD_{\text{non-isosbestic}}}{OD_{\text{isosbestic}}} = \frac{OD_{610}}{OD_{570}} \quad (3)$$

محاسبه درصد اشباع اکسیژن خون تصاویر

اندازه‌گیری میزان اشباع اکسیژن هموگلوبین در یک نمونه از خون بر اساس قانون بیرلامبر صورت می‌گیرد:

$$I = I_0 \exp(-\epsilon c d) \quad (4)$$

که در آن I شدت عبوری، I₀ شدت اولیه، ε ضریب خاموشی در طول موج‌های مورد استفاده، C غلظت جذب نمونه و d طول مسیر نوری است. دانسیته نوری تابعی از ضریب خاموشی است که به صورت زیر تعریف می‌گردد:

$$OD = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon c d \quad (5)$$

در طول موج isosbestic، ضرایب خاموشی برای اکسی‌هموگلوبین و دی اکسی‌هموگلوبین یکسان است، بنابراین ε ثابت و دانسیته نوری این طول موج وابستگی به میزان اشباع اکسیژن ندارد و تنها به طول مسیر نوری و غلظت جذب نمونه وابسته است اما، در طول موج‌های حساس به اکسیژن، ضرایب خاموشی برای اکسی و دی اکسی‌هموگلوبین یکسان نیست و دانسیته نوری این طول موج‌ها بستگی به میزان اشباع اکسیژن، غلظت نمونه و طول مسیر نوری دارد. بنابراین با در نظر گرفتن نسبت دانسیته نوری دو طول موج متفاوت که یکی حساس به تغییرات اشباع اکسیژن و دیگری غیر حساس است، فاکتورهایی مانند طول مسیر نوری و غلظت جذب نمونه از بین می‌روند و تنها میزان اشباع اکسیژن باقی می‌ماند. به همین دلیل نسبت دانسیته نوری تصاویر تنها به اشباع اکسیژن حساس است.

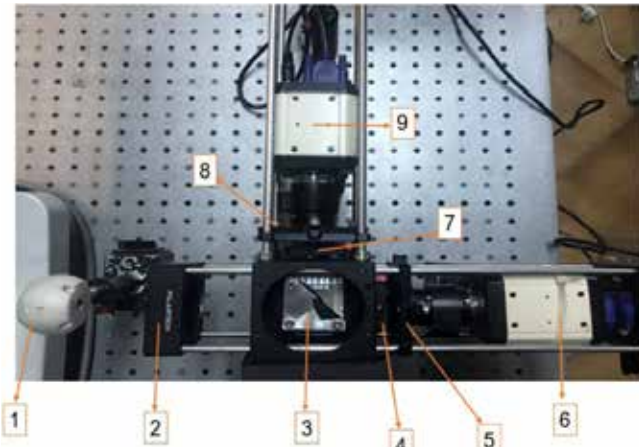
نسبت دانسیته نوری با اشباع اکسیژن خون یک رابطه معکوس تقریباً خطی دارد [۹] به همین دلیل محاسبه اشباع اکسیژن هموگلوبین خون را امکان پذیر می‌کند. رابطه اشباع اکسیژن خون با دانسیته نوری تصاویر به صورت زیر تعریف می‌گردد [۱۰، ۱۱]:

$$SO_2 = a \times ODR + b \quad (6)$$

a و b ثابت‌های کالیبراسیون هستند. ثابت a برابر با میانگین اشباع اکسیژن نمونه خون‌های شریانی مورد بررسی در طرح می‌باشد و ثابت

2. Fick's law

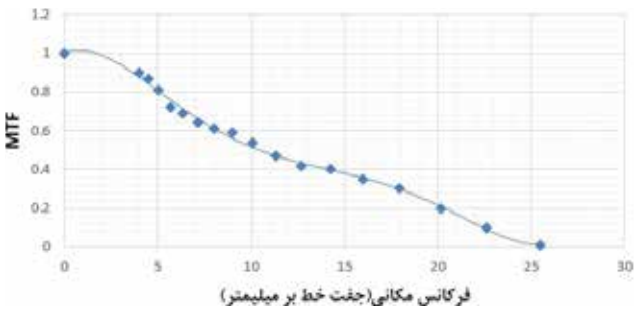
3. Hill's law



شکل ۳: نمایی از سیستم اکسیمتری دو طول موجی اجرا شده

۱. فانتوم معادل چشم ۲. عدسی شیئی ۳. شکافنده نور ۴. فیلتر ۴۰-۴۰۰ FB۶ عدسی ۵. عدسی Bi-convex ۶. دوربین کانال اول ۷. فیلتر ۴۰-۴۰۰ FB۵ عدسی ۸. عدسی Bi-convex ۹. دوربین کانال دوم

به منظور ارزیابی کیفی عملکرد سیستم اکسیمتری دو طول موجی فاندوس اجرا شده، اندازه‌گیری تابع انتقال مدولاسیون سیستم انجام شد. شکل ۴ نتایج حاصل از اندازه‌گیری تابع انتقال مدولاسیون سیستم اکسیمتری دو طول موجی فاندوس را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۴ دیده می‌شود، سیستم اجرا شده در ام‌تی‌اف ۰/۵ برابر ۱۰ جفت خط بر میلی‌متر است که حدود ۱۰۰ میکرومتر می‌باشد.

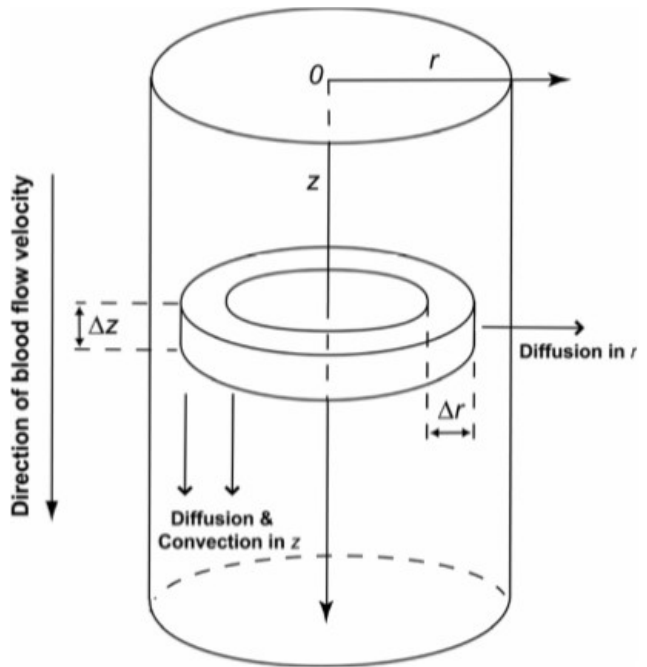


شکل ۴: تابع انتقال مدولاسیون سیستم اکسیمتری فاندوس دو طول موجی اجرا شده

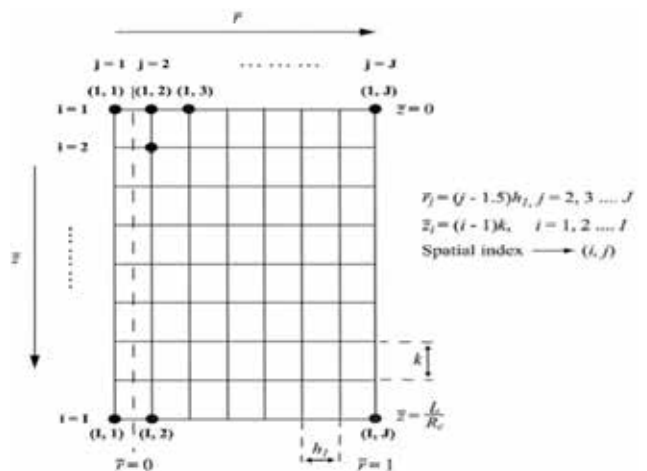
پس از آماده‌سازی فانتوم معادل چشم به منظور ارزیابی میدان دید، تصویربرداری صورت گرفت. بدین منظور از نوار مدرجی در سطح داخلی فانتوم استفاده شد. همان‌طور که در شکل ۵ دیده می‌شود، میدان دید سیستم اکسیمتری دو طول موجی فاندوس از فانتوم معادل چشم حدود ۶۰ درجه می‌باشد.

پس از اخذ تصاویر شبکیه در دو طول موج ۵۷۰ و ۶۱۰ نانومتر، با استفاده از کدهای نرم‌افزار متلب پروفایل مناسب برای عروق هر یک از تصاویر رسم گردید. شکل ۶ پروفایل مناسب برای یکی از نمونه خون‌ها را نشان می‌دهد. سپس با استفاده از رابطه ۲ و ۳ نسبت دانسیته نوری هریک از تصاویر محاسبه گردید. در ابتدا ۴ نمونه خون انسانی که دارای اشباع اکسیژن ۱۰۰ درصد بودند، تهیه و سپس توسط کریستال سدیم

قبلی در همان نقطه مش صورت گرفت. فرآیند تکرار تا زمانی ادامه یافت که تفاوت در غلظت اکسیژن در هر نقطه بین دو تکرار پیوسته بیش از ۱۰-۱۵ میکرومول باشد.



شکل ۱: طراحی از هندسه استوانه‌ای عروق



شکل ۲: شبکه فضایی سیستم عروقی در مقطع عرضی

یافته‌ها

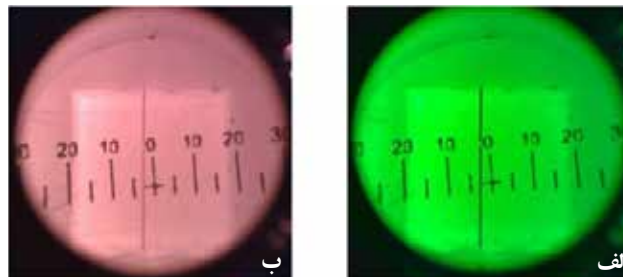
در شکل ۳ سیستم اکسیمتری دو طول موجی فاندوس طراحی شده نشان داده شده است. اجزای مورد استفاده در این چینش، مطابق با المان‌های ذکر شده در بخش سخت‌افزاری قرار داده شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

این اولین مطالعه جهت بهبود اندازه‌گیری اشباع اکسیژن خون توسط سیستم اکسیمتری دو طول موجی فاندوس با استفاده از الگوریتم دیفیوژن مستقل از زمان اکسیژن است. نتایج حاصل شده مبتنی بر فرضیه تبادلات اکسیژن با بافت شبکه‌ای است که صحت عملکرد سیستم اکسیمتری دو طول موجی فاندوس را برای محاسبه اشباع اکسیژن بهبود داد. ضرایب کالیبراسیون ارائه شده در این طرح توانست این خطا را تا حدود ۸ درصد کاهش دهد. این ضرایب عبارت‌انداز: ضریب a که از میانگین اشباع اکسیژن نمونه خون‌های مورد استفاده در طرح محاسبه گردید و میزان آن ۹۰ درصد برآورد شد و ضریب b از میانگین انحراف دانسیته نوری تصاویر محاسبه گردید و میزان آن $۶۹/۲$ درصد است. در طول موج $isobestic$ ، ضرایب خاموشی برای اکسی‌هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین یکسان است بنابراین ϵ ثابت و دانسیته نوری این طول موج وابستگی به میزان اشباع اکسیژن ندارد و تنها به طول مسیر نوری و غلظت جذب نمونه وابسته است. اما، در طول موج‌های حساس به اکسیژن، ضرایب خاموشی برای اکسی‌هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین یکسان نیست و دانسیته نوری این طول موج‌ها بستگی به میزان اشباع اکسیژن، غلظت نمونه و طول مسیر نوری دارد. بنابراین با در نظر گرفتن نسبت دانسیته نوری دو طول موج متفاوت که یکی حساس به تغییرات اشباع اکسیژن و دیگری غیر حساس است، فاکتورهایی مانند طول مسیر نوری و غلظت جذب نمونه از بین می‌رود و تنها میزان اشباع اکسیژن باقی می‌ماند به همین دلیل نسبت دانسیته نوری تصاویر تنها به اشباع اکسیژن حساس است. بنابراین دو طول موج ایدئال برای استفاده در سیستم اکسیمتری دو طول موجی فاندوس، طول موج ۵۷۰ و ۶۱۰ نانومتر می‌باشند.

فانتوم طراحی شده در این طرح قابلیت استفاده در سیستم اکسیمتری اجرا شده و تجزیه و تحلیل داده‌ها را دارا بود. تکرارپذیری نسبت دانسیته نوری اندازه‌گیری شده $۵/۰$ درصد (انحراف استاندارد ۱۰ اندازه‌گیری متوالی در یک نمونه واحد که دارای اشباع اکسیژن ۱۰۰ درصد) بود. باین حال، اندازه‌گیری‌های میزان اشباع اکسیژن توسط رابطه خطی آن با نسبت دانسیته نوری تصاویر در مقایسه با آنالیز دستگاه اندازه‌گیری گازهای خون شریانی متفاوت بود. این موضوع ممکن است ناشی از ناهمگنی در خواص نوری نمونه خون باشد.

نتایج حاصل از آزمایش‌های تجربی این طرح نشان می‌دهد که کریستال سدیم‌دی‌تیونیت می‌تواند به عنوان ماده‌ای برای کاهش میزان اشباع اکسیژن در نمونه خون‌های انسانی مورد استفاده قرار گیرد. افزودن این ماده به خون تنها میزان اشباع اکسیژن را تغییر می‌دهد و هیچ تأثیری بر سایر مشخصه‌های خون ندارد. یک رابطه خطی بین غلظت کریستال سدیم‌دی‌تیونیت اضافه شده به نمونه‌های خون و کاهش اشباع اکسیژن بعد از گذشت زمان حدود ۴ دقیقه مشاهده شد. بررسی‌ها نشان

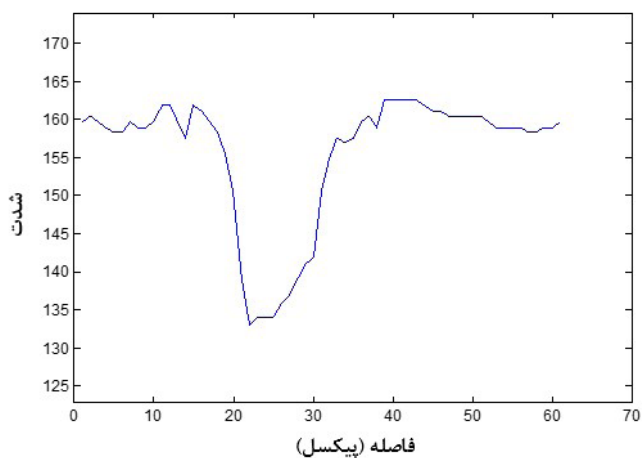


شکل ۵: میدان دید ۶۰ درجه‌ای از فانتوم معادل چشم توسط سیستم اکسیمتری دو طول موجی فاندوس طراحی شده (الف) تصویر طول موج ۵۷۰ نانومتر، (ب) تصویر طول موج ۶۱۰ نانومتر

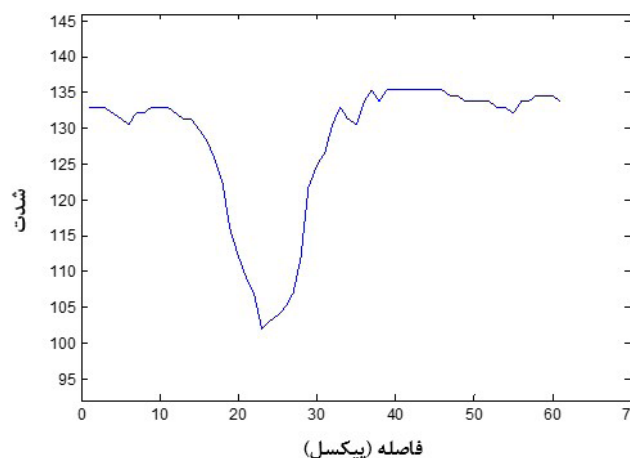
دی تیونیت میزان اشباع اکسیژن آن‌ها را به ۹۰ درصد و ۸۰ درصد کاهش دادیم. بدین ترتیب هر نمونه خون انسان به سه دسته که شامل اشباع ۱۰۰ درصد، ۹۰ درصد و ۸۰ درصد دسته‌بندی شد. هر یک از نمونه خون‌ها با اشباع اکسیژن متفاوت به داخل لوله‌های مویین تزریق و در دو طول موج تصویربرداری شدند. در نهایت ۱۲ نمونه خون انسانی مورد بررسی قرار گرفت و نسبت دانسیته نوری هر یک محاسبه گردید. نتایج نشان می‌دهد که نسبت دانسیته نوری تصاویر به‌طور عکس با اشباع اکسیژن متناسب است به‌طور مثال اگر میزان اشباع اکسیژن خون کاهش یابد، نسبت دانسیته نوری تصاویر افزایش می‌یابد.

همان‌طور که در شکل ۶ دیده می‌شود، در تمامی نمونه خون‌ها پهنای پروفایل عروق در نصف ارتفاع آن‌ها یکسان است که دلیل آن مشابه بودن ضخامت تمامی لوله‌های مویین مورد استفاده در طرح است. زمانی که این ضخامت‌ها متفاوت باشد، تعداد پیکسل‌ها یا FWHM پروفایل‌های رسم‌شده برای عروق متفاوت خواهد بود. بنابراین یک راه محاسبه اندازه عروق شبکه‌ای بررسی تعداد پیکسل‌ها یا پهنای پروفایل رسم‌شده برای هر یک از تصاویر اخذ شده است. با مقایسه پروفایل‌های رسم‌شده هر یک از نمونه‌های خون می‌توان نتیجه گرفت که هرچه میزان اشباع اکسیژن کاهش یابد، شدت تصاویر افزایش می‌یابد. به‌طور مثال در پروفایل‌های رسم‌شده در شکل ۶ میزان شدت برای تصاویری با اشباع اکسیژن ۸۰ درصد بیش از پروفایل‌های رسم‌شده برای دیگر عروق است.

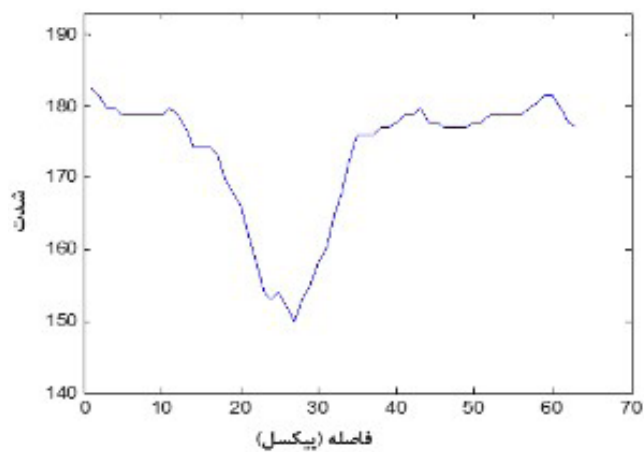
در این طرح جهت محاسبه اشباع اکسیژن نمونه‌های خون از رابطه تقریباً خطی بین اشباع اکسیژن هموگلوبین و نسبت دانسیته نوری تصاویر به‌دست‌آمده استفاده شد. با استفاده از روابط و تعیین میانگین درصد اشباع اکسیژن نمونه خون‌های شریانی مورد استفاده در طرح و همچنین میانگین انحراف معیار دانسیته نوری تصاویر به‌دست‌آمده، میزان اشباع اکسیژن هر یک از نمونه‌ها محاسبه گردید. جدول ۲ میزان اشباع اکسیژن محاسبه شده از طریق دانسیته نوری تصاویر و استفاده از الگوریتم دیفیوژن مستقل از زمان اکسیژن را نشان می‌دهد.



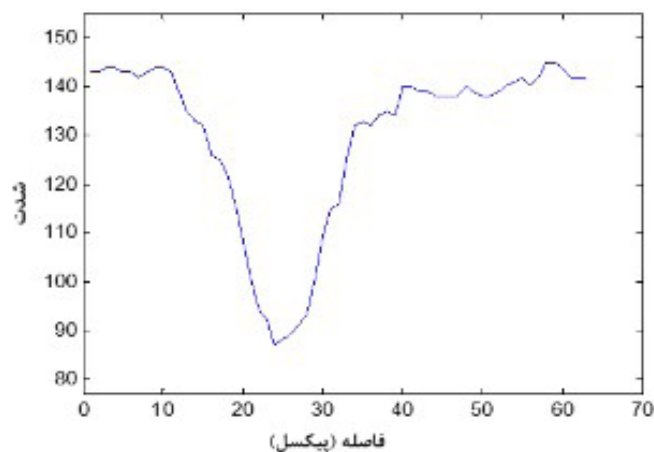
ب



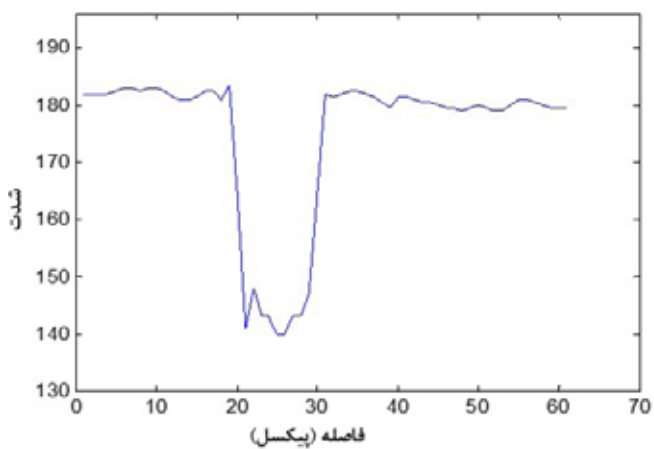
الف



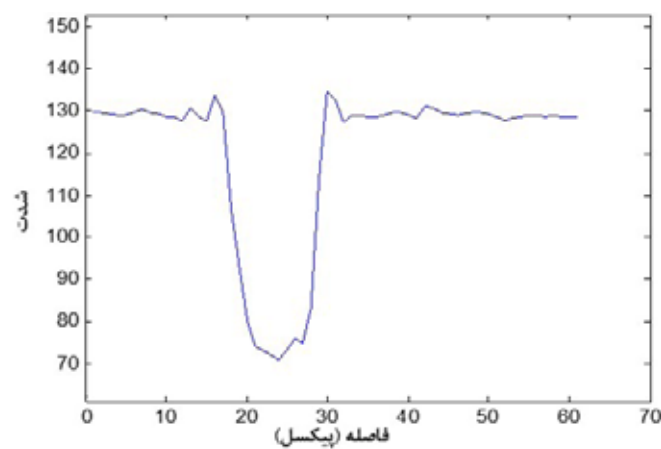
د



ج



ه



و

شکل ۶: پروفایل مناسب عروق شبکه برای یکی از نمونه خون‌ها

الف- اشباع اکسیژن ۱۰۰ درصد و طول موج ۵۷۰nm ب- اشباع اکسیژن ۱۰۰ درصد و طول موج ۶۱۰nm ج- اشباع اکسیژن ۹۰ درصد و طول موج ۵۷۰nm د- اشباع اکسیژن ۹۰ درصد و طول موج ۶۱۰nm ه- اشباع اکسیژن ۸۰ درصد و طول موج ۵۷۰nm و- اشباع اکسیژن ۸۰ درصد و طول موج ۶۱۰nm

می‌دهد که دلیل وجود این رابطه خطی ممکن است به دلیل آن باشد که این ماده تنها سبب کاهش اشباع اکسیژن به صورت خارجی می‌گردد در نتیجه ساختار و عملکرد غشای سلولی نسبتاً بدون تغییر باقی می‌ماند. نکته حائز اهمیت برای استفاده از کریستال سدیم‌دی-تیونیت مدت زمان اضافه شدن آن به نمونه می‌باشد. Mackenize در سال ۲۰۱۶ بیان کرد که مدت‌زمان لازم برای اضافه کردن سدیم‌دی-تیونیت به نمونه خون تا کاهش میزان اشباع اکسیژن آن حدود ۳۰ دقیقه است [۱]. همچنین در دیگر مقالات این مدت-زمان بین ۲۰ تا ۳۰ دقیقه عنوان شده است [۲۰] در حالی که نتایج حاصل از آزمایش‌های تجربی نشان می‌دهد که در صورت گذشت زمانی بیش از ۴ دقیقه پس از افزودن کریستال سدیم‌دی-تیونیت به نمونه، میزان اشباع اکسیژن خون به شدت افت پیدا می‌کند و این کاهش دیگر مطابق با میزانی که در جدول ۱ ارائه شد، نخواهد بود. بنابراین برای دریافت نتیجه مطلوب هنگام استفاده از این ماده، اندازه گیری صحیح زمان بسیار تأثیرگذار خواهد بود. الگوریتم ارائه‌شده در این طرح نشان‌دهنده پیشرفت قابل توجهی در این زمینه نسبت به کارهای قبلی در این موضوع است. این روش قادر به برآورد دقیق‌تر میزان اشباع اکسیژن خون از نسبت دانسیته نوری تصاویر اخذ شده است.

جدول ۲: میزان اشباع اکسیژن محاسبه‌شده از طریق نسبت دانسیته نوری تصاویر

نمونه	%SO ₂ اندازه گیری شده توسط	%SO ₂ اندازه گیری شده توسط
	دستگاه ABG	نسبت دانسیته نوری
1	100	90.88
	90	83.52
	80	76.94
2	100	89.76
	90	83.68
	80	78.47
3	100	93.12
	90	84.27
	80	75.76
4	100	89.24
	90	83.92
	80	73.98

References:

- Mackenzie, Lewis Edward. In vivo microvascular oximetry using multispectral imaging. 2016, University of Glasgow.
- Harris A, Dinn RB, Kagemann L, Rechtman E. A review of methods for human retinal oximetry. *Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina*, 2003; 34(2): 152-64.
- Pascolini D, Mariotti SP. Global estimates of visual impairment: 2010. *British Journal of Ophthalmology*, 2012; 96(5): 614-8.
- Pemp B, Schmetterer L. Ocular blood flow in diabetes and age-related macular degeneration. *Canadian journal of ophthalmology*, 2008; 43(3): 295-301.
- Cherecheanu AP, Garhofer G, Schmidl D, Werkmeister R, Schmetterer L. Ocular perfusion pressure and ocular blood flow in glaucoma. *Current opinion in pharmacology*, 2013; 13(1): 36-42.
- Dao-Yi Yu, Stephen J. Cringle. Retinal degeneration and local oxygen metabolism. *Experimental eye research*, 2005; 80(6): 745-51.
- Kurihara T, Westenskow PD, Gantner ML, Usui Y, Schultz A, Bravo S, Aguilar E, Wittgrove C, Friedlander MS, Paris LP, Chew E. Hypoxia-induced metabolic stress in retinal pigment epithelial cells is sufficient to induce photoreceptor degeneration. *Elife*, 2016; 5: e14319.
- Simó R, Hernández C. European Consortium for the Early Treatment of Diabetic Retinopathy (EUROCONDOR). Neurodegeneration is an early event in diabetic retinopathy: therapeutic implications. *British Journal of Ophthalmology*, 2012; 96(10): 1285-90.
- Sveinn Hakon H, Stefánsson E. Retinal oxygen saturation is altered in diabetic retinopathy. *British journal of ophthalmology* 96, 2012; 4: 560-3.
- Kurihara T, Westenskow PD, Gantner ML, Usui Y, Schultz A, Bravo S, Aguilar E, Wittgrove C, Friedlander MS, Paris LP, Chew E. Hypoxia-induced metabolic stress in retinal pigment epithelial cells is sufficient to induce photoreceptor degeneration. *Elife*, 2016; 5: e14319.
- Harris A, Dinn RB, Kagemann L, Rechtman E. A review of methods for human retinal oximetry. *Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina*, 2003; 34(2): 152-64.
- Kiilgaard JF, Pedersen DB, Eysteinnsson T, La Cour M, Bang K, Jensen PK, Stefansson E. Optic nerve oxygen tension: the effects of timolol and dorzolamide. *British journal of ophthalmology*, 2004; 88(2): 276-9.
- Pedersen DB, Eysteinnsson T, Stefansson E, Kiilgaard JF, La Cour M, Bang K, Jensen PK. Indomethacin lowers optic nerve oxygen tension and reduces the effect of carbonic anhydrase inhibition and carbon dioxide breathing. *British journal of ophthalmology*, 2004; 88(8): 1088-91.
- Pedersen DB, Jensen PK, la Cour M, Kiilgaard JF, Eysteinnsson T, Bang K, Wiencke AK, Stefánsson E. Carbonic anhydrase inhibition increases retinal oxygen tension and dilates retinal vessels. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 2005; 243(2): 163-8.
- Chen S, Shu X, Nesper PL, Liu W, Fawzi AA, Zhang HF. Retinal oximetry in humans using visible-light optical coherence tomography. *Biomedical Optics Express*, 2017; 8(3): 1415-29.
- Singh S, Velu G, Raman R. Development and Validation of Non simultaneous Retinal Image Acquisition-Based Retinal Oximeter. *Scientific Reports*, 2017; 7.
- Eliasdottir TS, Bragason D, Hardarson SH, Vacchiano C, Gislason T, Kristjansdottir JV, Kristjansdottir G, Stefánsson E. Retinal oximetry measures systemic hypoxia in central nervous system vessels in chronic obstructive pulmonary disease. *PloS one*, 2017; 12(3): e0174026.
- Eliasdottir TS, Bragason D, Hardarson SH. Retinal Vessel Oxygen Saturation In Healthy Individuals. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2012; 53(14): 2172.
- Oteng-Amoako A. Total Retinal Blood Flow and Retinal Oxygen Saturation in the Major Retinal Vessels of Healthy Participants. 2013, University of Waterloo.
- Briely-Sabo K, Bjornerud A. Accurate de-oxygenation of ex vivo whole blood using sodium Dithionite. in *Proc. Intl. Sot. Mag. Reson. Med.* 2000.