لیزر در پزشکی؛ ۱۳۹۸، دورهٔ ۱۶، شمارهٔ ۱، صفحات: ۱۰-۲ .

مقاله پژوهشی

بهبود روش اکسیمتری دو طول‌موجی فاندوس برای اندازه‌گیری کمی اشباع اکسیژن شبکیه در فانتوم معادل چشم با استفاده از الگوریتم دیفیوژن مستقل از زمان اکسیژن

مریم صادقی‌فر [۱]
مرجانه حجازی [۲]
علیرضا رمضانی [۳]
حمید احمدیه [٤]
سارا مشعل‌چی‌زاده [۱]

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

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

۳. *دانشیار، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران*

۴. *استاد، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران*

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

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 به‌دست آورد. صحت عملکرد اکسیمتری می‌تواند تحت‌تأثیر عوامل مختلفی قرار بگیرد و منجر به برآورد اشتباه دانسیتهٔ نوری گردد. مطالعات شبیه‌سازی اخیر نشان داد که خطای اندازه‌گیری اشباع اکسیژن می‌تواند تا ۲۰ درصد باشد. بنابراین هدف از انجام این طرح بررسی فرضیهٔ مبادلهٔ 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 سه‌بعدی ساخته شد. پس از تصویربرداری از فانتوم، با توجه به رابطهٔ خطی بین اشباع اکسیژن و نسبت دانسیتهٔ نوری تصاویر، درصد اشباع اکسیژن هریک از نمونه‌ها محاسبه گردید.

یافته‌ها: میانگین انحراف استاندارد برای اندازه‌گیری‌های مکرر نسبت دانسیتهٔ نوری ۲/۶۹ درصد بود. در هر مورد، انحراف استاندارد در دو تصویر به‌دست آمد و سپس در میان تمام نمونه‌ها میانگین گرفته شد. میانگین اشباع اکسیژن حاصل از نسبت دانسیتهٔ نوری تصاویر خون شریانی داخل لوله‌های مویین ۰/۰۸±۹۰/۰ (انحراف استاندارد ± میانگین) بود. تفاوت معنی‌داری در گروه مشاهده شد ($p<0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی مبتنی‌بر فرضیهٔ تبادلات اکسیژن با بافت شبکیه است که سبب بهبود صحت عملکرد سیستم اکسیمتری دو طول‌موجی فاندوس برای محاسبهٔ اشباع اکسیژن شد. فانتوم طراحی‌شده قابلیت استفاده در سیستم اجرا شده و تجزیه و تحلیل داده‌ها را دارا بود. تکرارپذیری نسبت دانسیتهٔ نوری اندازه‌گیری‌شده ۰/۵ درصد بود.

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

مقدمه

بیماری‌های عروقی شـــبکیه علت اصلی از دست دادن بینایی در سراسر جهان اســـت. 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 انســـداد عروق شبکیه را فراهم کند[۲]. شناسایی مشـــخصه‌های طیفی دو کروموفور اصلی خون یعنی هموگلوبین و اکسی‌هموگلوبین از اهمیت زیادی برخوردار است. طبق گزارش‌های ارائه‌شـــده در سال ۲۰۱۰، ۱۸۵ میلیون نفر در سراسر جهان به‌علت بیماری‌های شبکیه نابینا شدند[۲] که تغییرات در جریان خون و میزان اکســـیژن در ایجاد این بیماری‌ها دخیل بوده است[۳و۴]. بنابراین متابولیســـم اکسیژن شـــبکیه یک فاکتور کلیدی در شناخت بیماری‌های چشمی اســـت[۸-۵] و می‌تواند به‌عنوان یک روش غربالگری اولیه مورد استفاده قرار گیرد. دو پارامتر اصلی برای انجام این کار، اندازه‌گیری میزان جریان خون و اشباع اکسیژن شـــبکیه می‌باشد. چالش عمده‌ای که مانع این غربالگری می‌گردد، فقدان یک روش درســـت برای اندازه‌گیری دقیق اشـــباع اکسیژن شبکیه می‌باشـــد[۱۳-۱۱]. درصد اشباع اکسیژن عروق شبکیه را می‌توان با روش‌های تهاجمی و یا غیرتهاجمی اندازه‌گیری کرد. یکی از این روش‌های غیرتهاجمی، اکســـیمتری دو طول‌موجی فاندوس[1] است. این تکنیک براساس میزان تفاوت طیف جذبی اکسی‌هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین با اندازه‌گیری شـــدت نور انعکاسی از شبکیه در دو طول‌موج مختلف عمل می‌کند. از تصاویر به‌دســـت‌آمده از عروق شبکیه می‌توان نسبت دانسیتهٔ نوری عروق را در هر طول‌موجی محاسبه کرد.

هدف تحقیقات بالینی یافتن روش‌های غیرتهاجمی اســـت که می‌تواند کمبود اکسیژن را به‌صورت مستقیم اندازه‌گیری کند[۱۴].پایش تغییرات اشباع اکسیژن خون در شبکیه می‌تواند مصرف اکسیژن در شبکیه، سطح قند خـــون و عملکرد عروق ریز در بیماری رتینوپاتـــی دیابتی را ارزیابی کند[۱۵و۱۶]. بنابراین این مهم اســـت که اشباع اکسیژن خون را به‌دست آوریم زیرا می‌توان برای نظارت بر اختلالات شـــبکیه از آن استفاده کرد و صحت تشـــخیص بیماری‌های شبکیه را بهبود بخشید. لذا، هدف از انجام این پژوهش بهبود روش اکســـیمتری دو طول‌موجی فاندوس برای اندازه گیری کمی اشـــباع اکسیژن شـــبکیه در فانتوم معادل چشم با استفاده از الگوریتم دیفیوژن مستقل از زمان اکسیژن می‌باشد.

روش بررسی

این طرح در دو بخش ســـخت‌افزاری و نرم‌افزاری اجرا شـــد. در بخش ســـخت‌افزاری به بهینه‌ســـازی چینش اپتیکی اکسیمتری دو طول‌موجی فاندوس پرداخته شـــد. در بخـــش نرم‌افزاری به منظـــور افزایش صحت عملکرد سیستم اکسیمتری، دانسیتهٔ نوری تصاویر و میزان اشباع اکسیژن با استفاده از الگوریتم دیفیوژن مستقل از زمان اکسیژن محاسبه گردید.

بخش سخت‌افزاری

طراحی و اجرای چینش اپتیکی

سیستم اکسیمتری دو طول‌موجی فاندوس طراحی‌شده دارای دو کانال مجزا بـــرای ثبت همزمان دو تصویر تک‌رنگ در دو طول‌موج از شـــبکیهٔ فانتوم معادل چشم می‌باشد. این سیستم شامل: دو دوربین تجاری یکسان (YM2300D, VGA Industrial camera, china)، لنزهـــای اپتیکـــی مشـــابه (LB1471-ML, Thorlabs, USA) فیلترهـــای تداخلی مناســـب (FB550-40, FB600-40, Thorlabs, USA)، یک شـــکافندهٔ نور (BS013, Thorlabs, USA) و یک عدسی شیئی (Classic BIO Lenses(20D), Volk, USA) می‌باشـــد. ایـــن چینش اپتیکی براساس 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 سیســـتم اکسیمتری دو طول‌موجی فاندوس ساخته‌شـــده و تجزیـــه و تحلیل داده‌ها نیاز به یک فانتوم معادل چشـــم انســـان بود. بدین‌منظور در ابتدا براساس الگو گرفتن از مدل چشم ناوارو، فانتوم معادل چشمی با همان خصوصیات اپتیکی جهت استفاده در پروژه، طراحی و ســـپس توسط پرینتر سه‌بعدی ســـاخته شد. این فانتوم شامل: عدسی، شبکیه و لوله‌های مویین است. از ویژگی‌های اصلی فانتوم ساخته شده می‌توان به انطباق ابعاد آن با ابعاد واقعی چشم انسان، قابلیت پر شدن با آب که ضریب شکســـتی مشـــابه با زجاجیهٔ چشم انسان ایجاد می‌کند، همچنین دارای عدســـی با توان ۴۵ دیوپتر که مطابق با چشم انسان است و قابلیت قرارگرفتن لوله‌های مویین پرشده از خون در فانتوم وجود دارد.

به‌منظور شبیه‌سازی عروق شبکیه برای فانتوم معادل چشم، از لوله‌های مویین استفاده شد. قطر داخلی لوله‌های مویین مورد استفاده ۰/۱۵ میلی‌متر و قطر خارجی آن‌ها ۰/۲۵ میلی‌متر می‌باشـــد که مشـــابه با عروق شبکیهٔ چشم انسان هستند.

اندازه‌گیری تابع انتقال مدولاسیون سیستم

به‌منظور تعیین رزولوشن سیستم اکسیمتری دو طول‌موجی فاندوس از صفحهٔ USAF1951, USA,Thorlabs استفاده شد. این صفحه دارای ۶ گروه و ۶ المان در دو راســـتای افقی و عمودی است که درمجموع می توان گفت از ۷۲ جفت خط تشکیل شده‌اند که هریک با یک المان و گروه خاصی مشخص شده اســـت. به منظور رسم تابع انتقال مدولاسیون برای سیستم تصویربرداری اکســـیمتری دو طول‌موجی فاندوس طراحی‌شده،

1. DWFO (Dual-Wavelength Fundus Oximetry)

صفحهٔ تعیین رزولوشن USAF1951 در محل جسم (فانتوم معادل چشم) و مقابل چینش اپتیکی قرار داده شد و تصویربرداری صورت گرفت. پس از تصویربرداری از این قطعهٔ اپتیکی، هریک از جفت خط‌ها از تصویر جدا شدند و با استفاده از نرم‌افزار متلب شدت بیشینه و کمینهٔ آن‌ها به‌دست آمد. بدین‌ترتیب ام‌تی‌اف تمامی جفت خط‌ها با استفاده از فرمول ام‌تی‌اف به‌دست آمد. برای محاسبهٔ رزولوشن هریک از جفت خط‌ها در صفحهٔ تعیین رزولوشن از رابطهٔ زیر استفاده می‌شود:

$$\text{فرکانس مکانی} = 2\left(\text{شماره گروه} + \frac{\text{شماره المان}-1}{6}\right) \quad (۱)$$

بدین‌ترتیب، x و y هر یک از جفت خط‌ها که نشان‌دهندهٔ یک نقطهٔ 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 طول‌موجی فاندوس اجراشده، در ابتدا ۴ نمونهٔ 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 درجهٔ سانتی‌گراد که مطابق با دمای طبیعی بدن انسان می‌باشد، انجام شد. برای کاهش میزان اشباع اکسیژن در نمونهٔ خون‌های تهیه‌شده یک روش دقیق ضروری است. کریستال سدیم‌دی-تیونیت ماده‌ای است که اغلب برای کاهش میزان اشباع اکسیژن مورد استفاده قرار می‌گیرد. فرمول شیمیایی این ماده $Na_2O_4S_2$ می‌باشد و با نام‌های بلانکیت یا جوهرقند نیز شناخته می‌شود. این ماده تنها سبب کاهش اشباع اکسیژن به صورت خارجی می‌گردد درنتیجه 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 تقسیم‌شده مقدار مناسبی از کریستال سدیم‌دی 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 کاهش‌یافته توسط کریستال سدیم دی‌تیونیت، نمونهٔ خون‌ها به لوله‌های مویین تزریق شد و داخل فانتوم معادل چشم قرار گرفتند و تصویربرداری آغاز شد. به‌منظور ارزیابی تکرارپذیری، ۱۰ اندازه‌گیری متوالی از هریک از نمونهٔ خون‌ها که در ابتدا دارای اشباع اکسیژن صددرصد بود، صورت گرفت.

جدول۱: غلظت سدیم‌دی‌تیونیت 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 ازجمله: عدم فوکوس مناسب یا تغییرات در سطح بازتابش نور سبب ایجاد نوردهی غیریکنواخت تصاویر ثبت‌شده می‌گردد. بنابراین پیش‌پردازش تصاویر در سیستم اکسیمتری دو طول‌موجی فاندوس امری مهم و ضروری محسوب می‌شود. چون تصاویر از قسمت‌های مختلف شبکیه به‌دست می‌آیند، ممکن است دارای اختلافاتی در شدت پیکسل‌ها یا روشنایی پس‌زمینه باشند، بنابراین به منظور یکنواخت‌سازی شدت پس‌زمینهٔ 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.

محاسبهٔ دانسیتهٔ نوری تصاویر

این روش شامل استفاده از الگوریتم ردیابی عروق برای محاسبهٔ دانسیته‌های نوری در عروق شبکیه و اندازه‌گیری بازتاب عروق و بافت اطراف شبکیه می‌باشد. به منظور محاسبهٔ دانسیتهٔ نوری تصاویر، نیاز به ثبت دو تصویر همزمان از شبکیه در دو طول‌موج بود یک تصویر باید در طول‌موج isosbestic هموگلوبین ثبت می‌گردید و طول‌موج دیگر به‌گونه‌ای انتخاب می‌شد که ضرایب جذب اکسی‌هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین تفاوت زیادی باهم داشته باشند.

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

رسم گردید. از اطلاعات به‌دست‌آمده توسط الگوریتم، دانسیتهٔ نوری هر یک از تصاویر نمونه‌های خون که در دو طول‌موج متفاوت ثبت شدند، طبق رابطهٔ زیر به‌دست آمد:

$$OD_{\lambda} = -Log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right) \quad (۲)$$

سپس برای محاسبهٔ نسبت دانسیتهٔ نوری تصاویر از رابطهٔ زیر استفاده شد:

$$ODR = \frac{OD_{non-isosbestic}}{OD_{isosbestic}} = \frac{OD_{610}}{OD_{570}} \quad (۳)$$

محاسبهٔ درصد اشباع اکسیژن خون تصاویر

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

$$I = I_0 \exp(-\varepsilon\, c\, d) \quad (۴)$$

که در آن I شدت عبوری، I_0 شدت اولیه، ε ضریب خاموشی در طول‌موج‌های مورد استفاده، c غلظت جذب نمونه و d طول مسیر نوری است. دانسیتهٔ نوری تابعی از ضریب خاموشی است که به‌صورت زیر تعریف می‌گردد:

$$OD = \log\frac{I_0}{I} = \varepsilon\, c\, d \quad (۵)$$

در طول‌موج isosbestic، ضرایب خاموشی برای اکسی‌هموگلوبین و دی اکسی‌هموگلوبین یکسان است، بنابراین ε ثابت و دانسیتهٔ نوری این طول موج وابستگی به میزان اشباع اکسیژن ندارد و تنها به طول مسیر نوری و غلظت جذب نمونه وابسته است اما، در طول‌موج‌های حساس به اکسیژن، ضرایب خاموشی برای اکسی و دی‌اکسی‌هموگلوبین یکسان نیست و دانسیتهٔ نوری این طول‌موج‌ها بستگی به میزان اشباع اکسیژن، غلظت نمونه و طول مسیر نوری دارد. بنابراین با درنظر گرفتن نسبت دانسیتهٔ نوری دو طول‌موج متفاوت که یکی حساس به تغییرات اشباع اکسیژن و دیگری غیرحساس است، فاکتورهایی مانند طول مسیر نوری و غلظت جذب نمونه از بین می‌روند و تنها میزان اشباع اکسیژن باقی می‌ماند. به‌همین دلیل نسبت دانسیتهٔ نوری تصاویر تنها به اشباع اکسیژن حساس است.

نسبت دانسیتهٔ نوری با اشباع اکسیژن خون یک رابطهٔ معکوس تقریباً خطی دارد[۹] به‌همین دلیل محاسبهٔ اشباع اکسیژن هموگلوبین خون را امکان‌پذیر می‌کند. رابطهٔ اشباع اکسیژن خون با دانسیتهٔ نوری تصاویر به صورت زیر تعریف می‌گردد[۱، ۱۰و۱۱]:

$$SO_2 = a \times ODR + b \quad (۶)$$

a و b ثابت‌های کالیبراسیون هستند. ثابت a برابر با میانگین اشباع اکسیژن نمونهٔ خون‌های شریانی مورد بررسی در طرح می‌باشد و ثابت b برابر با میانگین انحراف استاندارد دانسیتهٔ نوری تصاویر به‌دست آمده است. با قرار دادن هر یک از مقادیر a و b در معادله و نسبت دانسیتهٔ نوری هر یک از تصاویر به‌دست آمده می‌توان میزان اشباع اکسیژن هریک از نمونه‌های خون را برآورد کرد.

استفاده از الگوریتم دیفیوژن مستقل از زمان اکسیژن

به‌دلیل 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 درنظر گرفته‌ایم:

۱. سلول‌های قرمز خون به‌طور پراکنده در پلاسما توزیع می‌شوند.

۲. فرض شده است اندوتلیوم مویرگی هیچ‌گونه مقاومتی در برابر انتقال اکسیژن ارائه نمی‌کند، بنابراین منحنی اکسیژن به‌صورت 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 درنتیجه تعادل شیمیایی در عروق، بین محلول اکسیژن و اکسی‌هموگلوبین وجود دارد و معادلهٔ هیل[۳] می‌تواند برای نشان دادن این رابطه مناسب باشد.

۴. جریان خون فقط در جهت z است.

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

براساس فرضیات ذکر شده در بالا در مورد انتشار اکسیژن، مبنای این الگوریتم استفاده از اصلاحات ارائه شده توسط وانگ و استفاده از معادلهٔ Hill و Fick است. شکل ۱ ماژول استوانه‌ای عروق است که درنظر گرفته شد و در آن z و r 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 به‌دلیل موازنهٔ غلظت محلول اکسیژن باشد.

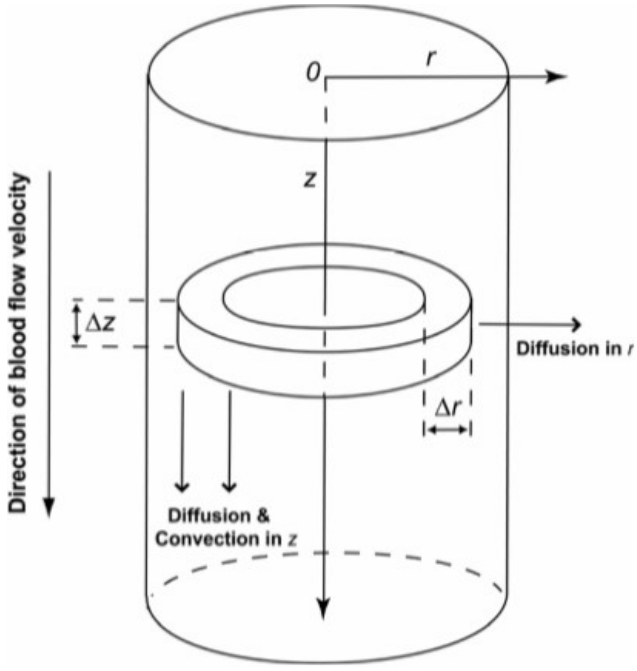
z و r مختصات محوری و شعاعی هستند. خون از طریق عروق در $z = 0$ جریان دارد. اکسیژن در هر دو جهت شعاعی و محوری منتشر می‌شود. حلقهٔ داخل استوانه نشان‌دهندهٔ یک حجم پوستهٔ واحد است.

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

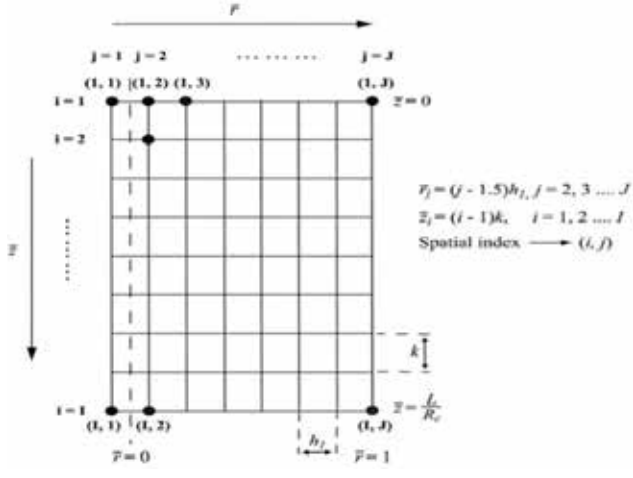
2. Fick's law

3. Hill's law

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 10^{-15} میکرومول باشد.



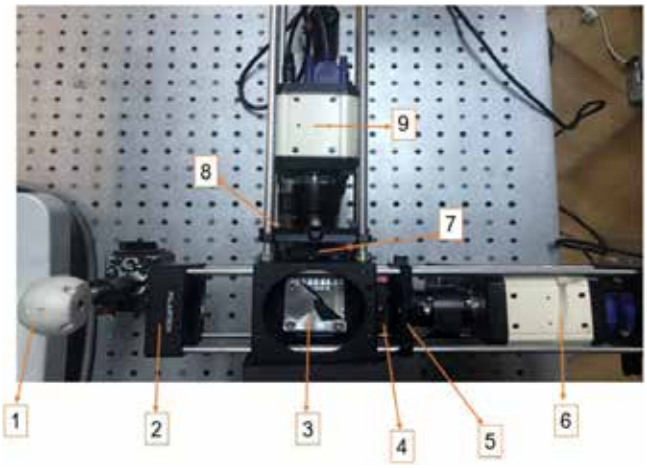
شکل۱: طرحی از هندسهٔ استوانه‌ای عروق



شکل۲: شبکهٔ فضایی سیستم عروقی در مقطع عرضی

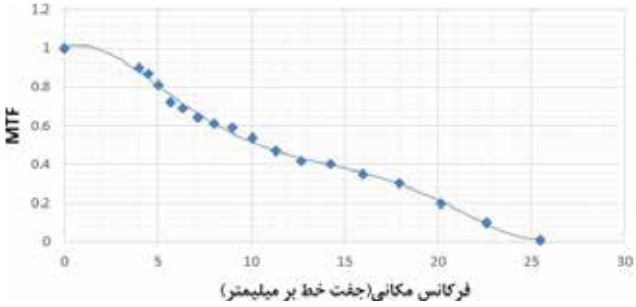
یافته‌ها

در شکل۳ سیستم اکسیمتری دو طول‌موجی فاندوس طراحی‌شده نشان داده شده است. اجزای مورد استفاده در این چینش، مطابق با المان‌های ذکرشده در بخش سخت‌افزاری قرار داده شده است.



شکل۳: نمایی از سیستم اکسیمتری دو طول موجی اجرا شده
۱.فانتوم معادل چشم ۲. عدسی شیئی ۳.شکافندهٔ نور ۴.فیلتر۴۰-FB۶۰۰ ۵.عدسی Bi-convex ۶.دوربین کانال اول ۷.فیلتر ۴۰-FB۵۵۰ ۸.عدسی Bi-convex ۹.دوربین کانال دوم

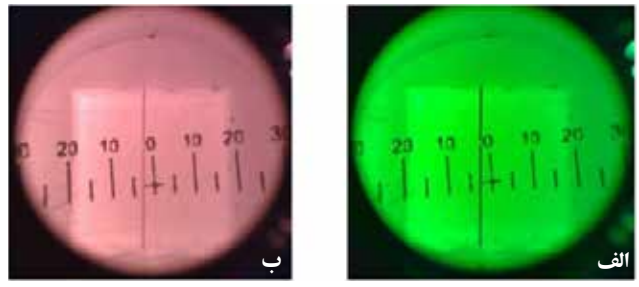
به‌منظور ارزیابی کیفی عملکرد سیستم اکسیمتری دو طول‌موجی فاندوس اجراشده، اندازه‌گیری تابع انتقال مدولاسیون سیستم انجام شد. شکل۴ نتایج حاصل از اندازه‌گیری تابع انتقال مدولاسیون سیستم اکسیمتری دو طول‌موجی فاندوس را نشان می‌دهد. همان‌طورکه در شکل۴ دیده می‌شود، سیستم اجراشده در ام‌تی‌اف ۰/۵ برابر ۱۰ جفت خط بر میلی‌متر است که حدود ۱۰۰ میکرومتر می‌باشد.



شکل۴: تابع انتقال مدولاسیون سیستم اکسیمتری فاندوس دو طول موجی اجراشده

پس‌ازآماده‌سازی‌فانتوم‌معادل‌چشم‌به‌منظورارزیابی‌میدان‌دید،تصویربرداری صورت گرفت. بدین منظور از نوار مدرجی در سطح داخلی فانتوم استفاده شد. همان‌طورکه در شکل ۵ دیده می‌شود، میدان دید سیستم اکسیمتری دو طول‌موجی فاندوس از فانتوم معادل چشم حدود ۶۰ درجه می‌باشد.

پس از اخذ تصاویر شبکیه در دو طول‌موج 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 نمونهٔ خون‌ها را نشان می‌دهد. سپس با استفاده از رابطهٔ ۲ و ۳ نسبت دانسیتهٔ نوری هریک از تصاویر محاسبه گردید. در ابتدا ۴ نمونهٔ خون انسانی که دارای اشباع اکسیژن ۱۰۰ درصد بودند، تهیه و سپس توسط کریستال سدیم



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

دی تیونیت میزان اشـــباع اکســـیژن آن ها را بـــه ۹۰ درصد و ۸۰ درصد کاهش دادیم. بدین ترتیب هر نمونه خون انســـان به سه دسته که شامل اشـــباع ۱۰۰ درصد، ۹۰ درصد و ۸۰ درصد دســـته‌بندی شد. هر یک از نمونهٔ خون ها با اشـــباع اکسیژن متفاوت به داخل لوله‌های مویین تزریق و در دو طول‌موج تصویربرداری شـــدند. در نهایت ۱۲ نمونهٔ خون انسانی مورد بررســـی قرار گرفت و نسبت دانسیتهٔ نوری هر یک محاسبه گردید. نتایج نشان می‌دهد که نسبت دانسیتهٔ نوری تصاویر به‌طور عکس با اشباع اکسیژن متناسب است به‌طور مثال اگر میزان اشباع اکسیژن خون کاهش یابد، نسبت دانسیتهٔ نوری تصاویر افزایش می‌یابد.

همان‌طورکـــه در شـــکل ۶ دیده می‌شـــود، در تمامـــی نمونهٔ خون‌ها پهنـــای پروفایل عـــروق در نصف ارتفاع آن‌ها یکســـان اســـت که دلیل آن مشـــابه بودن ضخامـــت تمامی لوله‌هـــای مویین مورد اســـتفاده در طرح اســـت. زمانی‌که این ضخامت‌ها متفاوت باشـــد، تعداد پیکسل‌ها یا FWHM پروفایل‌هـــای رسم‌شـــده برای عـــروق متفـــاوت خواهد بود. بنابرایـــن یـــک راه محاســـبهٔ انـــدازهٔ عـــروق شـــبکیه بررســـی تعداد پیکســـل‌ها یـــا پهنـــای پروفایـــل رسم‌شـــده بـــرای هریـــک از تصاویر اخذشـــده اســـت. بـــا مقایســـهٔ پروفایل‌هـــای رسم‌شـــدهٔ هریـــک از نمونه‌های خون می‌توان نتیجه گرفت که هرچه میزان اشـــباع اکســـیژن کاهش یابد، شـــدت تصاویر افزایش می‌یابد. به‌طور مثال در پروفایل‌های رسم‌شـــده در شکل ۶ میزان شـــدت برای تصاویری با اشباع اکسیژن ۸۰ درصد بیش از پروفایل‌های رسم‌شده برای دیگر عروق است.

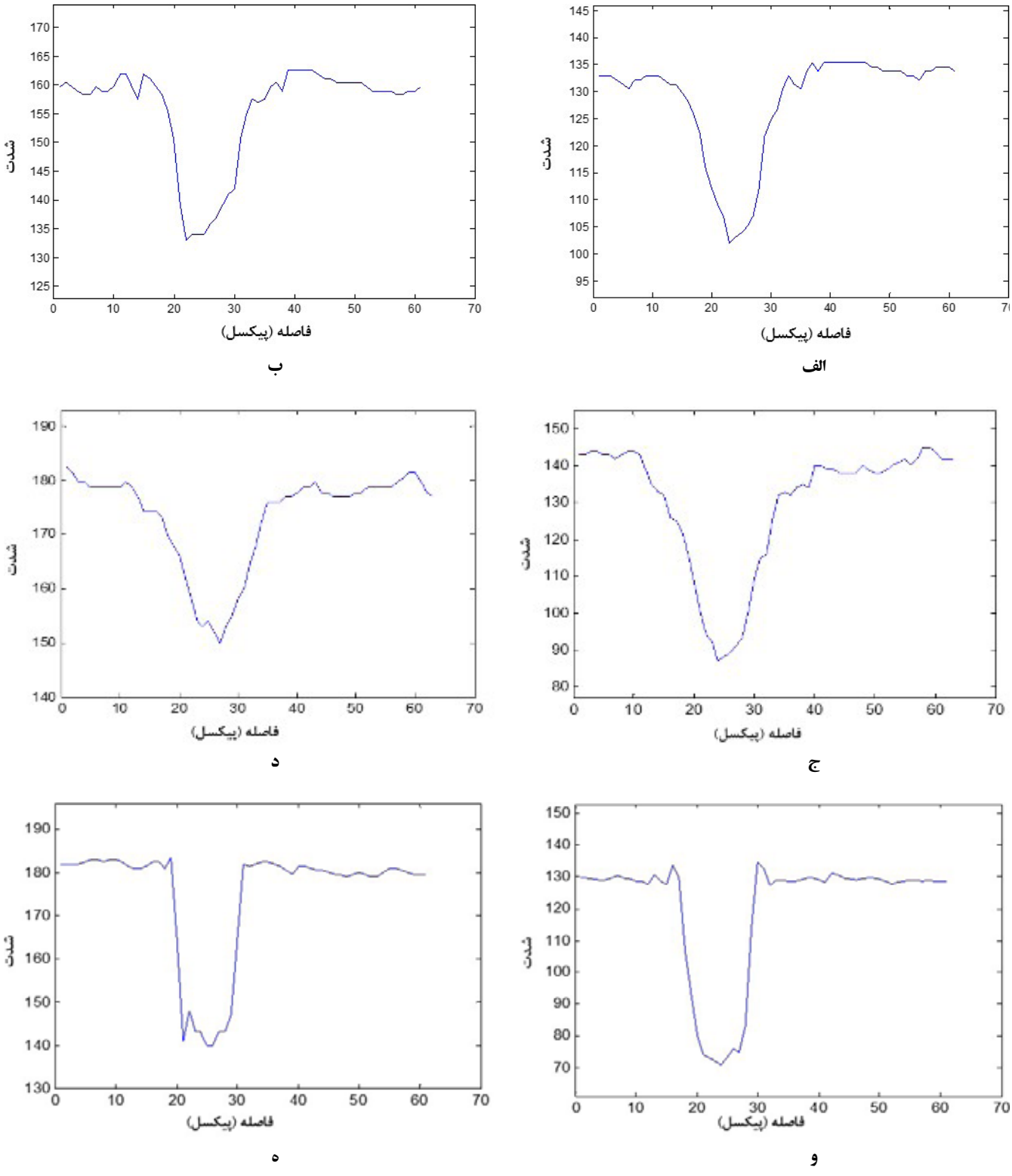
در ایـــن طـــرح جهت محاســـبهٔ اشـــباع اکســـیژن نمونه‌هـــای خون از رابطـــهٔ تقریبـــاً خطـــی بین اشـــباع اکســـیژن هموگلوبین و نســـبت دانســـیتهٔ نـــوری تصاویر به‌دســـت‌آمده اســـتفاده شـــد. با اســـتفاده از روابـــط و تعییـــن میانگیـــن درصد اشـــباع اکســـیژن نمونـــهٔ خون‌های شـــریانی مورد اســـتفاده در طرح و همچنیـــن میانگین انحـــراف معیار دانسیتهٔ نوری تصاویر به‌دست‌آمده، میزان اشباع اکسیژن هریک از نمونه‌ها محاســـبه گردید. جدول ۲ میزان اشباع اکســـیژن محاسبه‌شده از طریق دانســـیتهٔ نوری تصاویر و اســـتفاده از الگوریتم دیفیوژن مستقل از زمان اکسیژن را نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

این اولین مطالعه جهت بهبود اندازه‌گیری اشـــباع اکسیژن خون توسط سیستم اکسیمتری دو طول‌موجی فاندوس با استفاده از الگوریتم دیفیوژن مستقل از زمان اکسیژن است. نتایج حاصل شده مبتنی بر فرضیهٔ تبادلات اکسیژن با بافت شبکیه اســـت که صحت عملکرد سیستم اکسیمتری دو طول‌موجی فاندوس را برای محاســـبهٔ اشـــباع اکسیژن بهبود داد. ضرایب کالیبراســـیون ارائه شـــده در این طرح توانســـت این خطا را تا حدود ۸ درصد کاهش دهد. این ضرایب عبارت‌انداز: ضریب a که از میانگین اشباع اکســـیژن نمونهٔ خون‌های مورد استفاده در طرح محاسبه گردید و میزان آن ۹۰ درصد برآورد شـــد و ضریب b از میانگین انحراف معیار دانســـیتهٔ نـــوری تصاویر محاســـبه گردید و میزان آن ۶۹/۲ درصد اســـت. در طول موج isosbestic، ضرایب خاموشـــی برای اکسی‌هموگلوبین و دی‌اکسی هموگلوبین یکسان اســـت بنابراین ε ثابت و دانسیتهٔ نوری این طول‌موج وابســـتگی به میزان اشـــباع اکســـیژن ندارد و تنها به طول مسیر نوری و غلظت جذب نمونه وابسته است. اما، در طول‌موج‌های حساس به اکسیژن، ضرایب خاموشی برای اکســـی‌هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین یکسان نیســـت و دانسیتهٔ نوری این طول‌موج‌ها بستگی به میزان اشباع اکسیژن، غلظت نمونه و طول مســـیر نوری دارد. بنابراین با درنظر گرفتن نســـبت دانســـیتهٔ نوری دو طول‌موج متفاوت که یکی حســـاس به تغییرات اشباع اکسیژن و دیگری غیرحساس است، فاکتورهایی مانند طول مسیر نوری و غلظت جذب نمونه از بین می‌رود و تنها میزان اشباع اکسیژن باقی می‌ماند به‌همین‌دلیل نسبت دانسیتهٔ نوری تصاویر تنها به اشباع اکسیژن حساس است. بنابراین دو طول‌موج ایدئال برای استفاده در سیستم اکسیمتری دو طول‌موجی فاندوس، طول‌موج ۵۷۰ و ۶۱۰ نانومتر می‌باشند.

فانتوم طراحی‌شـــده در این طرح قابلیت استفاده در سیستم اکسیمتری اجراشده و تجزیه و تحلیل داده‌ها را دارا بود. تکرارپذیری نسبت دانسیتهٔ نـــوری اندازه‌گیری‌شـــده ۵/۰ درصد (انحراف اســـتاندارد ۱۰ اندازه‌گیری متوالی در یک نمونهٔ واحد که دارای اشـــباع اکســـیژن ۱۰۰ درصد) بود. بااین‌حال، اندازه‌گیری‌های میزان اشـــباع اکسیژن توسط رابطهٔ خطی آن با نســـبت دانسیتهٔ نوری تصاویر در مقایســـه با آنالیز دستگاه اندازه‌گیری گازهای خون شـــریانی متفاوت بود. این موضوع ممکن اســـت ناشـــی از ناهمگنی در خواص نوری نمونهٔ خون باشد.

نتایـــج حاصـــل از آزمایش‌های تجربـــی این طرح نشـــان می‌دهد که کریستال ســـدیم‌دی‌تیونیت می‌تواند به‌عنوان ماده‌ای برای کاهش میزان اشباع اکسیژن در نمونهٔ خون‌های انسانی مورد استفاده قرار گیرد. افزودن این ماده به خون تنها میزان اشـــباع اکســـیژن را تغییـــر می‌دهد و هیچ تأثیری بر ســـایر مشـــخصه‌های خون ندارد. یک رابطهٔ خطی بین غلظت کریســـتال سدیم‌دی‌تیونیت اضافه‌شده به نمونه‌های خون و کاهش اشباع اکسیژن بعد از گذشت زمان حدود ۴ دقیقه مشاهده شد. بررسی‌ها نشان



شکل۶: پروفایل مناسب عروق شبکیه برای یکی از نمونهٔ خون‌ها
الف- اشـــباع 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 موج۶۱۰nm ه- اشباع اکسیژن ۸۰ درصد و طول موج۵۷۰nm و- اشباع اکسیژن ۸۰ درصد و طول موج ۶۱۰nm

می‌دهد که دلیل وجود این رابطهٔ خطی ممکن اســت به‌دلیل آن باشد که این ماده تنها ســبب کاهش اشباع اکسیژن به‌صورت خارجی می‌گردد در نتیجه ساختار و عملکرد غشای ســلولی نسبتاً بدون تغییر باقی می‌ماند. نکتهٔ حائز اهمیت برای استفاده از کریستال سدیم‌دی-تیونیت مدت‌زمان اضافه شدن آن به نمونه می‌باشد. Mackenize در سال ۲۰۱۶ بیان کرد که مدت‌زمان لازم برای اضافه کردن ســدیم‌دی‌تیونیت به نمونهٔ خون تا کاهش میزان اشــباع اکسیژن آن حدود ۳۰ دقیقه است[۱]. همچنین در دیگر مقالات این مدت-زمان بین ۲۰ تا ۳۰ دقیقه عنوان شده است[۲۰] درحالی‌که نتایج حاصل از آزمایش‌های تجربی نشان می‌دهد که درصورت گذشت زمانی بیش از ۴ دقیقه پس از افزودن کریستال سدیم‌دی‌تیونیت به نمونه، میزان اشــباع اکسیژن خون به شــدت افت پیدا می‌کند و این کاهــش دیگر مطابق با میزانــی که در جدول ۱ ارائه شــد، نخواهد بود. بنابرایــن برای دریافت نتیجهٔ مطلوب هنگام اســتفاده از این ماده، اندازه گیری صحیح زمان بسیار تأثیرگذار خواهد بود. الگوریتم ارائه‌شده در این طرح نشــان‌دهندهٔ پیشرفت قابل توجهی در این زمینه نسبت به کارهای قبلی در این موضوع اســت. این روش قادر به برآورد دقیق‌تر میزان اشباع اکسیژن خون از نسبت دانسیتهٔ نوری تصاویر اخذ شده است.

جدول۲: میزان اشباع اکسیژن محاسبه‌شده از طریق نسبت دانسیتهٔ نوری تصاویر

نمونه	SO_2% اندازه گیری شده توسط دستگاه ABG	SO_2% اندازه گیری شده توسط 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:

1. Mackenzie, Lewis Edward. In vivo microvascular oximetry using multispectral imaging. 2016, University of Glasgow.

2. 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.

3. Pascolini D, Mariotti SP. Global estimates of visual impairment: 2010. British Journal of Ophthalmology, 2012; 96(5): 614-8.

4. Pemp B, Schmetterer L. Ocular blood flow in diabetes and age-related macular degeneration. Canadian journal of ophthalmology, 2008; 43(3): 295-301.

5. 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.

6. Dao-Yi Yu, Stephen J. Cringle. Retinal degeneration and local oxygen metabolism. Experimental eye research, 2005; 80(6): 745-51.

7. 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.

8. 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.

9. Sveinn Hakon H, Stefánsson E. Retinal oxygen saturation is altered in diabetic retinopathy. British journal of ophthalmology 96, 2012; 4: 560-3.

10. 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.

11. 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.

12. Kiilgaard JF, Pedersen DB, Eysteinsson 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.

13. Pedersen DB, Eysteinsson 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.

14. Pedersen DB, Jensen PK, la Cour M, Kiilgaard JF, Eysteinsson 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.

15. 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.

16. Singh S, Velu G, Raman R. Development and Validation of Non simultaneous Retinal Image Acquisition–Based Retinal Oximeter. Scientific Reports, 2017; 7.

17. 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.

18. Eliasdottir TS, Bragason D, Hardarson SH. Retinal Vessel Oxygen Saturation In Healthy Individuals. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2012; 53(14): 2172.

19. Oteng-Amoako A. Total Retinal Blood Flow and Retinal Oxygen Saturation in the Major Retinal Vessels of Healthy Participants. 2013, University of Waterloo.

20. Briely-Sabo K, Bjornerud A. Accurate de-oxygenation of ex vivo whole blood using sodium Dithionite. in Proc. Intl. Sot. Mag. Reson. Med. 2000.