

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61B 3/12 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 99810546.5

[45] 授权公告日 2006 年 6 月 28 日

[11] 授权公告号 CN 1261071C

[22] 申请日 1999.7.29 [21] 申请号 99810546.5

[30] 优先权

[32] 1998.7.31 [33] IL [31] 125614

[86] 国际申请 PCT/IL1999/000418 1999.7.29

[87] 国际公布 WO2000/006015 英 2000.2.10

[85] 进入国家阶段日期 2001.2.28

[71] 专利权人 耶达研究与开发有限公司

地址 以色列雷霍沃特

[72] 发明人 阿米兰·格林瓦尔德 达林·纳尔逊

审查员 刘 畅

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所
代理人 马 浩

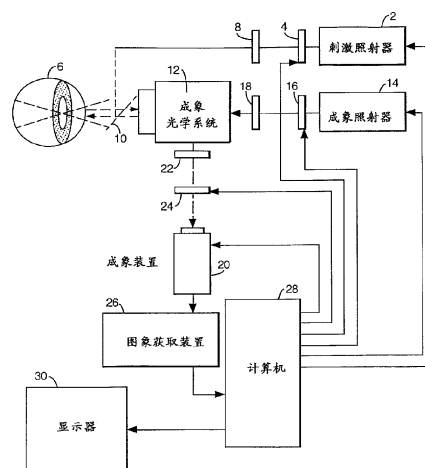
权利要求书 3 页 说明书 10 页 附图 1 页

[54] 发明名称

用于对视网膜反射能力改变成象的系统和方法

[57] 摘要

本发明提供一种用于对反射能力改变、由于视网膜功能造成的视网膜(6)内在或外部的荧光改变成象的系统，其包括：一用于照射视网膜(6)的成象照射器(14)；一用于感生一功能响应的视网膜(6)刺激照射器(2)；一经过视网膜成象光学系统(12)接收来自视网膜(6)的光的成象装置(20)；用于数字化和存储从所述成象装置(20)接收的图象的图象获取装置(26)，和用于控制所述系统的操作和处理存储的图象以揭示对应于视网膜功能的差分功能信号的计算机(28)。



1、一种用于对反射能力改变、由于正常被刺激的视网膜功能造成的视网膜的内在或外部的荧光改变成象的系统，包括：

一个用于照射视网膜的成象照射器；

一个用于感生一光学可检测的功能响应信号的视网膜刺激照射器；

一个经过视网膜成象光学系统接收来自视网膜的光的成象装置；
用于数字化和存储从所述成象装置接收的图象的图象获取装置，
和

用于控制所述系统的操作和处理所述存储的图象以揭示一对应于视网膜功能的差分的光学可检测的功能响应信号的计算机装置，

其特征在于：

所述成象照射器包括用于由选择的可见和/或红外光波长至少在一个选择的时间周期期间至少照射视网膜的主要部分的装置；

所述视网膜刺激照射器向视网膜发射可见光；

用于有选择地操作所述成像照射器和/或所述视网膜刺激照射器的装置；

所述计算机装置先于视网膜刺激照射器的活动而开始成像照射器的操作一选择的时间周期，以便能根据其差别记录至少两个由于使用可见光照射造成的视网膜的功能性改变所代表的图像；和

采用所述的刺激照射器以及所述的成像照射器可以实现在某些运行模式中需要的同时提供同周期的两个照射光束，从而达到同时双波长照射。

2、如权利要求 1 所述的系统，其特征在于，还包括：一个安装所述刺激照射器和所述视网膜之间的光路中的滤光器。

3、如权利要求 1 所述的系统，其特征在于，还包括：用于引起视网膜刺激照射和成象照射，以通过部分公用光路照射在视网膜上，同时防止刺激照射器产生的光照射在上述成象装置上的照明组合光

学系统。

4、如权利要求1的系统，其特征在于，还包括：一个连接到所述计算机装置的输出上的显示器。

5、如权利要求1的系统，其特征在于，所述刺激照射器和/或所述成象照射器中的每一个都安装有一用来实现视网膜受控照射的快门。

6、一种用于对反射能力改变、由于正常被刺激的视网膜功能造成的视网膜的内在或外部的荧光改变成象的方法，其特征在于，包括以下步骤：

用来自一稳定光源的选择波长的可见和/或红外光至少照射视网膜的主要部分；

成象和记录被照射的视网膜图象以形成一基线图象；

用具有适于感生一光学可检测的功能响应信号的波长的光有选择地照射所述视网膜部分；

在所述功能响应信号的感生以后或感生期间成象和记录视网膜图象；

进行所述基线图象和响应图象的差分分析，

从而揭示一对应于视网膜正常功能的差分的光学可检测的功能响应信号。

7、如权利要求6所述的方法，其特征在于，还包括：

获取多个基线图象，和

至少平均所述多个图象中的一些，以形成单一条件的空白图象。

8、如权利要求6的方法，还包括：

获取多个响应图象，和

至少平均所述多个图象中的一些，以形成单一条件的响应图象。

9、如权利要求7或8的方法，其特征在于，对所述单一条件空白图象或所述单一条件响应图象进行差分分析，以产生一差分图象。

10、如权利要求6的方法，其特征在于，还包括：用一种作为电压感测探头的荧光化合物来标记所述视网膜的步骤。

11、如权利要求 10 的方法，其特征在于，还包括：用具有适于记录反射能力改变或视网膜内的内在或外部的荧光改变的波长照射所述视网膜的步骤。

用于对视网膜反射能力改变成象的系统和方法

发明领域

本发明涉及视网膜功能的非侵入性成象用的系统和方法。

发明背景

在一些退化的视网膜疾病中，视网膜功能可在即使在视网膜组织由现行的、无作用的诊断成象技术可检测的改变发生以前被改变。例如在青光眼中，超过 50% 的视网膜轴索在病理学征兆或者甚至由病人注意到的视觉敏锐降低以前已发生退化。部分地由于现行的诊断技术的限制，据估计在美国就有超过 3,000,000 的病人是只有通常的可治疗的视力损伤的非诊断的牺牲者。

通常流行的眼科诊断成象技术，例如视网膜摄影、如在 WO 92/03086 中描述的荧光血管照相术，和视网膜层析 X 射线照相术，并不直接揭示视网膜功能状态。视网膜摄影可检测视网膜静态着色的异常，例如由溢血、强黄渗出物、“银”或“铜”血管的浑浊化、雪团状渗出点和因视网膜的水肿或者缺氧引起的视网膜发白而引起的。这些关联功能的欠缺，但是并不揭示视网膜本身的功能的完全，且只有在病理学自身建立之后有时才变得明显了。同样，依赖视网膜的微血管网的荧光标记图的荧光血管照相术，通过例如荧光素和吲哚菁绿的注射探头，仅能提供间接的关于视网膜功能的信息。其直接揭示的是与一定的功能不足有相关关系的、但常常在其后的视网膜脉管系统的缺陷。最后，视网膜层析 X 射照相术可以揭示由于视网膜轴索的数量的减小的解剖学的变化，但是再次，这一技术对视网膜自身的功能的完善性是不灵敏的。

但是，本发明可以用于直接测量视网膜的功能整体性。其打算检测视网膜光学特性的电活动相关的变化，既非侵入地又在由特殊指定的荧光探头标记视网膜之后。这些活动相关的变化直接涉及到对可见光的局部视网膜反应。本发明以两种模式即内在信号模式和

荧光信号模式中的一种测量视网膜的功能。

内在信号模式依赖许多由于视网膜生来的特性产生的功能光学信号中的任何一个。在照射下，功能视网膜经历的反射率的变化是由于许多生理参数的变化，包括但并不限于血液流动、血液氧化、从视网膜轴索的光散射、从视网膜色素表皮的光散射和/或感光色素脱色、和视网膜杆或锥感光色素脱色。视网膜自身因此而提供一充足的光学测量功能信号源，以很多不同的时间过程在很多不同的波长发生。

当根据本发明的方法以荧光信号模式操作时，感兴趣的视网膜首先可由荧光电压感测探头作标记。这一探头是将视网膜神经元的膜结合在一起的组合且根据跨过结合其的神经元膜的电场来改变荧光特性（在恒定的照射下，发射多或少的光，或改变其光谱特性）。因为横跨膜电场在神经元活动时被改变，所以利用这一荧光电压感测探头的光测量提供了一种直接分析视网膜活动的装置。同时该荧光信号可通过选择适用于内在荧光色基如 NADH 的激励和发射波长来测量。

任何类型的功能光信号的幅值都受静止视网膜的光学特性的影响。光必须通过所有的异常的不透明体或光散射组织，该光反射组织将其自身放在活动的视网膜组织和照射器或检测器之间。这样以揭示视网膜光学特性中的静止反常的方式调制了功能信号。

从静止的视网膜和从活动的视网膜拍摄的反射或荧光图象间的差别可作为差分图象进行编码，在这一是完全由于功能活动引起的亮度的差别中，象被经过任何光学明显的视网膜异常过滤过滤一样。两种信息都具有临床相关性。

本发明测量的反射/荧光的功能上的改变非常小，通常不超过由成象装置所接收的总光的 0.1%。当小的反射能力改变在反射或荧光的高背景水平下发生时是不明显的，因此，功能光成象以前没有被用于揭示眼科的诊断信息。

在美国专利 US5,485,229 中披露了被设计来利用视网膜反射功

能的改变来揭示视网膜健康的装置。这一现有技术的发明在这种情况下、在视网膜的神经纤维层中专门地利用了先前被观察的发生在活性轴索中的光散射改变现象。但是，本发明不同于现有技术且以几种方式对其作了改进。对现有技术的一个重要改进是本发明在记录和评估多种功能信号的适用性方面，在多个波长，与现有技术的限制在单一信号类型和成象波长相反。第二个不同点是本发明同时成象成百上千个到无数个视网膜点，对现有技术单点分辨率的改进。第三个关键不同是本发明将差分图象分析（differential image analysis）应用到功能视网膜信号。

根据本发明而将揭示功能信号的差分图象分析用于视网膜的临床成象中是新颖的，即选择性地强调在时间范围内（over time）代谢感生的反射或探测荧光的变化，酌情地移去跨过视网膜表面的图象的静止部分。现有技术的依赖向视网膜血液运载注射对照作用剂的暂时图案的方法，公开在 U.S.专利 No: 5,150,292 中，其共用了这里略述的图象分析技术的一些方面。但是所述专利的方法没能揭示功能视网膜信号，作为本方法是指定要做的。

发明概述

根据本发明，提供一种用于对反射能力改变、由于正常视网膜功能造成的视网膜的内在或外部的荧光改变成象的系统，其包括一用于照射视网膜的成象照射器；一用于感生一光学可检测的功能响应信号的视网膜刺激照射器；一经过视网膜成象光学系统从视网膜接收光的成象装置；用于数字化和存储从所述成象装置所接收的图象的图象获取装置，和用于控制该系统的操作和处理所述存储图象以揭示一对应于视网膜功能的差分的光学可检测的功能响应信号的计算机装置。

本发明还提供一种用于对反射能力改变、由于正常视网膜功能造成的视网膜的内在或外部的荧光改变成象的方法，其包括用来自一稳定光源的光照射视网膜的步骤；成象和记录被照射的视网膜图象以形成一基线图象的步骤；用具有适合于感生一光学可检测的功能响应信号的波长的光照射视网膜的步骤；在感生功能响应信号之

后或期间成象和记录视网膜图象的步骤；用适于测量所述信号的波长的光照射视网膜的步骤；进行所述基线和响应图象的差分分析的步骤，从而揭示一对应于视网膜功能的差分的光学可检测的功能响应信号。

附图简述

现在将参考附图结合一定的优选实施例来描述本发明，以便可以更加全面地理解它。

现在详细地参照图，需要强调的是图示的细节是通过例子和仅出于本发明的优选实施例直观讨论的目的进行的，且为了提供所确信的最有用的东西和最易于理解本发明的原理和概念方面的说明而进行的。对此，不打算以比基本理解本发明所必须的更详细的方式来说明本发明的结构部分，参考附图的说明使本领域的技术人员更加明白本发明的几种形式是如何应用在实际中。

在图中：

图 1 是根据本发明的视网膜功能的非侵入性成象装置的优选实施例的框图。

优选实施例的详细描述

图 1 中有一外刺激照射器 2，其可以由计算机监视器或任何其它的可控制地显示可视目标的图象显示装置构成。快门 4 也可设置在照射器 2 和病人眼睛的视网膜 6 之间的光路上。照射器 2 的显示由相关的持续时间、定时、波长、图形或强度控制。为了更精确地控制光的波长，光波长滤光器 8 可放在刺激图象和眼睛之间。图象通过位于眼睛和（眼科）成象光学系统 12 之间的部分反射镜 10 进入视网膜 6。同时，该外刺激照射可以由成象光学系统 12 本身带到视网膜 6。显然，其它外刺激照射装置可产生功能视网膜成象、包括那些使用图象照射器 14 作为全视角视网膜刺激器的，和图象获取照射所需要的基本上相同类型的可视刺激。

成象照射器 14 可以是稳定的闪光灯，或者可以用快速计算机控制的快门 16 所控制的视网膜 6 上的入射光、从稳定的光源（例如：

一白炽卤素灯泡或一静止电弧灯)提供照射。稳定的照射对于在成象生物学系统时得到好的功能信号是重要的,因为小的信号可能由于光源本身的强度不稳定而失去。

成象照射光源可以由滤光器 18 滤光以便具有任何想要的、可由成象装置 20 检测的波长或者波长的合成,或,在荧光测量的情况下,适于激励所使用的电压感测荧光探头的波长。对于可需要超时选择的多个不同照射波长的应用,可以使用一计算机控制的单色测光计或滤色轮来代替定波长的滤光器 18。在所有情况下,照射的时间可以受计算机控制。

有必要介绍一种用于使激励视网膜 6 的光滤光以及用来照射或刺激其的光滤光的滤光器 22。至少有两种很重要的情况。在内在信号模式下,在视网膜同时在一个波长被刺激和在另一波长成象的应用情况下,希望在紧挨成象装置 20 前放置滤光器 20,该滤光器去掉因刺激的反射光,同时允许成象波长通过。在荧光信号模式下,要求进行后视网膜滤光,以使发射波长处的光通过成象装置 20,同时去掉激励波长处的反射光。

本发明的记录和评价在多波长处的多信号类型的适应性是对现有系统的一个改进,它自身限定了来自轴索的偏振激光光散射信号的使用,其是一快速信号(在毫秒级的)。因为本发明的系统不依赖内在的单色光源进行成象,所以比现有技术更灵活。它可以测量轴索散射信号以及许多其它信号。例如:通过选择在眼睛的光敏色素(其在视网膜活动中变色)范围内的波长,可以揭示在整个可见光谱范围内眼睛的光学特性方面的与疾病有关的变化。在荧光模式下,选择控制照射和使视网膜成象的波长的滤光器要适用于所使用的电压感测探头。

特别新奇的是一种新型的视网膜内在信号。对于首次,并通过使用本发明,已检测到一过几秒钟显影的信号,表明了用 750nm 的红外光测量的视网膜反射方面的逐渐增加,根据把视网膜曝光于 540nm 的可见光。

该信号有几个先前没有观察到的特性，且因此明确地不同于视网膜血液动力信号、光散射信号、和由于视网膜光敏色素变色的信号。视网膜的可见色素在红外波长是清楚的，且在简短的照射刺激以后，而不是在过程中信号显现；因此，信号并不是由于光敏色素的变色。它也比现有技术用的光散射信号慢且具有与其相反的极性。其不同于光散射信号，也即其是特定波长（在波长超过 780nm 不可见）。最后，这一新奇信号不是由于血液动力改变，因为显示一反射中的增加而不是减小，是真实的源自视网膜微脉管系统的信号。

因为这一信号不依赖于流经相对粗的毛细血管层的血液的次调整，但是取而代之的正是由于视网膜细胞元素新陈代谢的活动，该信号具有比先前描述的血液动力信号高的空间分辨率。相似地，它也是比现有技术的光散射信号具有更高空间精度的信号，其沿被激活的轴索长度分布且不限定在光刺激区域内的活动神经元细胞体的轨线上。这种信号的再一个优点是其可用二维成象仪测量，改进了被现有技术限定的逐点测量。

照射光在视网膜 6 上聚焦，且从视网膜上发射/反射的光聚焦在成象装置 20 上，采用对视网膜 6 成象的光学系统标准，它可由但不限于眼膜曲率镜或底部照相机和具有将成象装置连接在其上的装置构成。

成象装置 20 可以是安装在成象光学系统 12 的成象平面处的高毕特深度（每像素 10 或更多位）的数字 CCD 摄象机（例如：Dalsa CA-D7-102/T）或其它高毕特深度、高分辨率的成象装置（例如：安装在光学成象成象器 2001 差分视频放大器上的视频信号产生 CCD 摄象机）。成象装置 20 由在计算机控制下的快门 24 开关。根据情况，快门 24 可以是机械或电子式的快门装置。安装数字图象获取装置 26（例如：Matrox Pulsar 的画面攫取器）用来从装置 20 传输图象信号到数字计算机 28 的存储器进行存储和分析。

视网膜刺激和图象获取的有关定时是通过给计算机 28 装备定时

I/O 接口板，或者间接地从计算机经其它合适的定时硬件来控制的。数据获取参数由操作者经计算机软件所提供的用户界面来建立。获取的视网膜图象由计算机存储。视网膜图象的分析也由计算机软件执行的。图象形式的结果也被计算机监视器或显示器 30 显示并打印否则进行可行的测试。

当本发明的系统用在荧光信号模式时，感兴趣的视网膜必须首先由合适的电压感测探头作标签（通过注射或者其它方法），除非使用内在荧光。用于神经成象的电压感测探头在现有技术中已作了描述，尽管它们没有应用于视网膜机能障碍的诊断。

利用计算机界面，用户选择要由刺激照射器 2 显示的刺激目标，且在更加通用的例子中，选择要由成象照射器 14 输出的波长。也选择由计算机使用的控制各种快门 4、16、24 的开启和关闭的定时参数。

几个不同照射定时和波长参数中的所有的都可以选择。在内在信号模式，这些根据兴趣功能信号感生到其上的波长，在功能信号被最好展现处的波长，和进行信号显现的速度而进行。在荧光信号模式下，滤光参数的选择将依据内在荧光（例：NADH）或者使用的电压感测探头的吸收和发射特性。以下是本发明的使用的例子，不限制其范围：

1) 在荧光模式下，刺激照射可以是可视目标的简单闪光，发生在捕捉激发照射在染色波长处的视网膜上的基线图象以后，和一个或一系列在其显影时拍摄的连续的记录功能或电压信号的图象之前。

2) 对一非常快的光扫描信号，刺激和成象照射可以是短（几毫秒）且同步的，利用白光来刺激，且用红外光的近红外来成象。

3) 同样，感光色素退色可以与同时刺激和成象照射（以同一波长，或不同的波长）一起被监视，经过从几百毫秒到秒的较长的一段时间。

4) 更加慢的显影，二次新陈代谢信号已由本发明检测到，显然

的在第一时间内，首先用 750nm 范围的红外线对视网膜成象，然后用可见光（例如 540nm）短暂地（100 毫秒）照射它，同时在接下来的 3-5 秒内继续记录 750nm 处的视网膜的反射。

在开始刺激时，刺激快门 4 打开且光通过照射组合光学系统例如镜子 10，允许刺激和成象照射使用同一光路，或直接进入到成象光学系统 12 本身。在开始图象成象照射时，可以是在开始刺激照射之前、同时、之后或者与此交错，照射快门 16 打开，且也经成象光学系统 12 和照射组合光学系统或镜子 10 发送光。

组合的刺激和成象照射光束在患者眼睛的视网膜 6 上聚焦。从眼睛上反射的光或荧光再次由视网膜成象光学系统或镜子 10 捕捉且在高分辨率的、构成成象装置 20 的如 CCD 摄像机的二维成象装置的成象平面上聚焦。后照射滤光器 22 可以放置在视网膜和成象装置 20 之间以便在合适时过滤出刺激或激励波长。

图象信息通过图象获取装置 26 从成象装置 20 传输到计算机 28，如果需要的话获取装置 26 将照相信号转换为数字形式，且控制将数字数据放入计算机存储器中。由成象装置 20 获取图象的定时也根据用户决定参数从计算机 28 进行控制。在计算机 28 上，图象数据也可以存储在磁盘或其它长期的数字存储介质上。

图象分析可以由不同的路径进行，在某些细节上彼此不同。根据获取参数，一个或几个图象被设定为基线图象，在开始刺激照射之前或短暂照射之后在图象波长处显示视网膜的反射/荧光。当获取多于一个的基线图象时，能对这些一起平均以产生单一条件空白图象，其中照相机和其它噪声已相对于整个照射信号而减小。来自多图象获取事件的图象也被平均。

在刺激视网膜照射期间或之后被获取的其它图象是指定的响应图象。由于小型的功能信号，使得这些响应信号在仓促的测试中看上去同基线信号没有什么区别。但是，随后的分析揭示了它们包含的小功能信号。从一个响应图象得到单一条件响应图象，或者，更典型地，通过将在同一组波长和定时参数下拍摄的几个单独的响应

图象一起平均而得到。这些图象可以来自一个记录事件或可由多个记录事件组合。

现在通过两个优选方法中的一个进行差分分析。既可从单一条件响应图象减去单一条件空白图象，也可用单一条件响应图象除以单一条件空白图象。这些数学操作中的一个或者可被直接涉及到的其它操作中的一个，移去视网膜反射/荧光图象的不变背景，留在视网膜对可视刺激的功能响应之后。该最终图象称为差分图象，因为其选择性地揭示了两种其它图象间的差别。

不要只是从单一条件响应图象和单一条件空白图象获取一差别信号。另外，相关的分析操作也可揭示相关的功能差别。例如，两个单一条件响应图象可以在不同的照射条件下拍摄，且它们自己可被用于产生差分图象。这揭示了指定所使用的照射条件而不是由于视网膜自身的照射的视网膜功能响应部分。这种方法具有从刺激照射部分析出因子的成象照射的效果。

以下的例子是将这一分析步骤用于特定的情况，不打算作为本发明使用的限制。在曝光于刺激可见光之前获取一个图象时，和此后的另一个时，本发明可设定用红外线照明（是可视的，其本身不引起功能变化）照射视网膜。通过从一个图象中减去另一个或以一个图象除以另一个揭示了由于响应可见光的辐射活动的视网膜的增加的新陈代谢活动而发生在两个图象间的变化。（由电的激活性或感光色素脱色而引起的）。在由此产生的差分图象中，移去了没有变化的背景。取而代之的是，根据功能信号的标记，经历没有功能性的反射变化的区域是无特征的，同时其它区域变得相对暗或亮。

背景移去减小了差分图象的动态范围，使得它现在可以改变比例（放大）以使先前的不可见功能信号变为可见。在视网膜区域内的 0.1% 的功能信号的 50% 的异常变化可容易地用这一方法检测到，同时未留意无差分成象技术。

必须注意的是，造成分裂的分析过程具有根据视网膜背景反射的亮度使功能信号正常化的优点；因此，由之产生的图象显示了同

样的区域亮度，而不是反射光中的功能改变的同样的绝对幅值，该区域经历了反射中的同样百分比的功能变化。这一内部正常化帮助避免了由视网膜的不均匀照射引起的功能信号的分析错误，而不是在视网膜本身方面的反常性。同时，减去的差分图象有时可能是优选的，恰好由于它对不均匀的照射或反射是灵敏的，也可能由于（临床重要）光学误差而发生在视网膜表面。

最后，被除以或被减去的差分图象的图象值重新改比例并被显示以使图象亮度值在显示装置（其可以是一监视器、打印机、或其它生成图象的装置）的整个范围内扩展。差分图象值可以显示为伪彩色图象或显示为灰度级图象。显然，差分图象可以以各种滤光、面元等标准形式为准来验证图象，且也可以进一步分析以选取临床相关的参数。

本领域的技术人员明显地知道本发明不限于上述图示实施例的详细描述和本发明可以以其它特定的方式体现而不脱离其精神或基本属性。因此本实施例在所有方面被认为是例证性的和非限制性的，本发明的范围由附属的权利要求而不是上述的描述来表明，且所有在权利要求的含义内和等效范围内的变化都因此而被包含在其中。

