

## 레이저 파장에서의 생체의 침습적 및 비침습적 광학계수 측정 방법

윤길원

삼성의료원 생명과학연구소 임상의학연구실

Invasive and non-invasive methods for estimating the optical properties of tissue at laser wavelengths

Gilwon Yoon

Samsung Biomedical Research Institute, Samsung Medical Center

=Abstract=

To predict light propagation in biological tissues irradiated by laser, the optical properties such as absorption and scattering coefficients are required. There have been various techniques for measuring these coefficients. One method requires tissue samples, often a slab of thin tissue, is invasive. On the other hand, non-invasive method usually measures back-scattered light from a subject with no physical interventions. Advantages and disadvantages of using different methods are investigated. A careful attention should be made in order to select the best method for a given experimental condition since, even either for invasive or non-invasive method, accuracy is subject to governing models and sample preparations.

Key words: optical properties, laser, biological tissues, invasive, non-invasive

### 서론

레이저의 의공학에서 응용은 레이저 수술로부터 치료, 계측, 영상진단등 다양하다. 반도체 레이저, 자유전자 레이저등 새 레이저의 이용과 레이저 제작 기술의 향상등으로 응용 범위가 넓어지고 있다. 어떤 응용에서건 가장 중요한 것 중 하나는 레이저 빛이 생체에 어떻게 전파되는가 하는 것인데 이는 파장과 특정 생체에 따라 다르게 나타난다. 예를 들면 엑시머 레이저 빛

은 micrometer 단위 정도만 투과하지만 근적외 선대에서는 수 millimeter나 투과한다. 또 파장에 따라 혈액이나 색소 등 특정 성분에 따라 흡수도가 크게 차이가 난다.

이러한 특성들은 흡수계수, 산란계수나 anisotropy factor 등 광학계수에 의하여 나타낼 수 있으며 레이저빔의 생체와의 반응 연구에 기본이 된다. 이 계수들을 측정하는 방법으로 여러가지가 사용되고 있으나 여기에서는 침습적 (invasive) 방법과 비침습적 (non-invasive) 방법으로 나누어 소개하고 아울러 효과적인 비침습적 방법을 소개하고자 한다.

### 침습적방법

1970년대 末부터 레이저빔의 생체내 전파를 연구하면서 처음 도입된 방법은 적분구를 사용하는 방법이다 [1]. 측정하고자 하는 생체부분을 microtome 등을 사용하여 수백 micrometer 두께의 slice로 만들어 적분구에 장착한 後 transmission (T), reflection (R) 을 측정하여 수학적 모델 (또는 governing equation) 을 역으로 추정하여 계수의 값을 계산한다. 예를 들어 흡수계수가  $\mu_a$ , 산란계수가  $\mu_s$  인 경우 R과 T는  $\mu_a$ 와  $\mu_s$ 의 함수로 나타나는데 inverse problem으로 전환하여 R과 T의 값으로 부터  $\mu_a$ 와  $\mu_s$ 를 구하는 방법이다. 대부분 샘플의 두께가 샘플의 면적에 비하여 상대적으로 매우 작게 하고, 조사되는 빛을 균일하게 하여 one dimensional 모델을 적용한 inverse problem으로 바꾼다.

이 방법에서 중요한 것은 어떤 모델을 사용하는가 하는 것인데 처음 도입된 Kubelka-

Munk式은 foward flux와 backward flux 두 가지로 간단하게 표현되는 것이었다[2]. 이 경우 생체의 흡수도가 산란도에 비하여 매우 적고 isotropic scattering에 국한되어야 하는 것으로 이를 고려하지 않고 무분별하게 사용된 경우도 많았다. 빛의 강도가 깊이에 따라 exponential로 감쇄하는 것으로 표현하는 Beer's Law는 산란이 거의 없는 경우에 정확히 사용할 수 있는 것으로 흡수계수에 의해서만 표현할 수 있다. 예를 들면 CO<sub>2</sub>, Er:YAG, Excimer 레이저 경우가 이에 속한다.

Kubelka-Munk式에서 발전한 모델이 Radiative Transfer Theory다[3]. 각 scattering particle 또는 scattering center에서 한 방향에서 입사한 빛이 3차원 공간에서 어떻게 산란되는가를 나타내는 phase function을 적용하여 여러 scattering particle에서 일어나는 산란 및 흡수 효과를 더하기 때문에 Kubelka-Munk式보다 더 정확한 모델이다. 이 모델에 기준을 두어 R과 T등을 측정하여 계수들을 구하면 된다.

그러나 Radiative Transfer Theory의 일반해는 아직까지 구해지지 못하였기 때문에 파장과 대상물의 scattering 정도에 따라서 approximated solution을 구할 수 밖에 없다. 예를 들면 산란 정도가 매우 적은 경우 first order approximation에 의하여, 산란이 많이 일어나는 near-infrared에서 생체의 경우는 diffusion approximation에 의하여 解를 구하는 것을 들 수 있다[4]. 광학계수들을 Radiative Transfer Theory로 부터 구하기 위해선 式의 비선형 때문에 흔히 numerical analysis등에 의하여 구하여야 한다.

수 백 micrometer의 얇은 두께의 샘플을 이용 R과 T를 측정하는 방법은 몇 가지 문제점을 안고 있다. 빛이 조사되는 샘플 표면이나 표면 부근에서는 빛이 아직 diffusion process가 아닌 multiple scattering mode로 수학적 모델로 나타내기 어렵다. 따라서 샘플의 두께가 충분하여 이런 surface effect가 상대적으로 적게 해야 하는데, 또 너무 두꺼운 경우 one-dimensional 모델링으로 사용하기에 부정확해진다. 이 적정 두께의 선정은 광학계수의 값으로부터 추정될 수 있으나, 대부분 광학계수의 값을 모르는 상태에서 측정하게 되므로 어렵게 된다. 이런 문제 해결을 위하여 asymptotic method가 제안되었다[5].

즉 여러 두께의 샘플을 측정하여 asymptotic value를 구하여 광학계수 산출에 이용하는 방법이다. T 측정의 경우 샘플 두께에 따른  $\ln(T)$  값의 slope은 광학계수의 함수로 표시되는데, multiple scattering이 일어나는 '얇은' 두께의 샘플과 모델의 one-dimensional 모델링이 틀려지게 되는 부분을 실험 데이터에서 발견할 수 있다. 반대로 phase function의 측정 때에는 이상적인 경우는 scattering particle이 하나가 있는 샘플이 되어야 하는데 이는 현실적으로 불가능한 경우이다. 따라서 여러 두께의 샘플에 대한 phase function을 측정 한 후, 샘플 두께가 제로로 수렴될 때의 값을 구했다. 동맥벽의 경우 이 방법을 이용하여 사용한 경우 633 nm 파장에 있어 흡수계수는 0.55/cm, 산란계수는 315.45/cm, phase function의 경우 Henyey-Greenstein formula에 근거하면 anisotropic factor는 0.945, bias value는 0.071로 추정되었다[5]. 이 값은 종래의 흡수계수의 값을 over-estimation하는 문제에 해결 실마리를 던지는 것으로 생각된다.

침습적 방법에서는 흔히 생체조직을 얼려서 얇은 두께로 자르므로 생체조직에 변형을 유발시킬 가능성이 있고, 혈액순환이 많은 경우 다루기 어려운 점들이 있다. 또 정확한 두께 컨트롤이 힘들며, 샘플을 잡아주는 glass와의 interface 문제도 수학적으로 해결해야 한다.

### 비침습적방법

비침습적인 방법에 의한 광학계수 측정방법에는 time-of-flight method와 frequency-domain method등이 연구중인데[6] 여기서는 spatial correlation method와 coherent backscattering method를 소개하고자 한다.

time-of-flight method는 레이저 impulse를 가하여 산란된 빛을 시간에 대하여 측정하는 방법이다. 이 방법은 '흡수계수  $\ll$  실제산란계수'인 경우에 한하여만 비교적 정확하게 측정이 되는 제약이 있다. 이 경우 impulse를 가한 후 back scattering이 최대에 이른 시간과 이 시점 후, 빛이 감쇄해가는 slope으로부터 흡수계수와 실제산란계수, 즉  $(1 - \text{anisotropic factor}) \times \text{산란계수}$ , 를 구할 수 있다. 이 경우 레이저 펄스에 대한 반사된 빛은 수 nanosecond의 짧은 시간에 반응이 일어나므로 비싼 장비가 필요하

게 되고 임상시험시 측정이 어렵다. 현재로서는 레이저빛의 생체 반응을 연구하는 차원에서 진행되고 있다.

frequency-domain method는 빛의 주파수변조를 하여 측정하고자 하는 부위에 조사시키고 반사된 빛의 평균강도(DC 성분), intensity oscillation(AC 성분) 및 위상차를 측정한다. 이는 이상의 세가지 값이 흡수계수와 실제산란계수와 연관이 있는 것을 이용 추정하는 방법이다. 주파수는 보통 수백 MHz에서 1 GHz 까지 변조된다. 적은 흡수계수의 차이를 검출하기가 힘들며, source와 detector geometry에 따른 문제등 해결해야 할 과제들이 있다.

spatial correlation method는 레이저빔등 작은 빔직경의 빛으로 照射하여 back scattering된 빛의 분포, 주로 radial distribution을 측정하여 광학계수를 추정하는 방법이다. 여기서는 cooled-CCD camera에 의한 방법을 제시하고자 한다. 이 방법은 effective attenuation coefficient,  $\mu_{eff}$ 을 정확하게 측정할 수 있다. radial distribution of backscattered light,  $Rd(r)$ 은 diffusion 영역에서는 아래와 같이 표현될 수 있다 [7].

$$Rd(r) \sim \exp(-\mu_{eff} r) / r^2 \quad (1)$$

기존의 방법같이  $Rd(r)$ 를 fiber나 photo-detector에 의하여 측정하려면 수 mm 以内의 거리에서 distribution이 정확하게 측정해야 하므로 detector 크기도 작아야 하며 detector의 정확한 위치도 콘트롤이 되어야 하는 어려움이 있다. 이런 문제는 CCD를 사용하여 간단히 측정할 수 있는 데 그림 1과 같이 실험장치를 구성하였다.

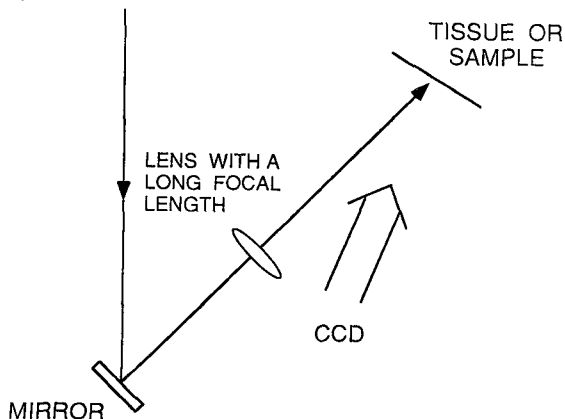


그림1: CCD를 이용 backscattering light으로부터  $\mu_{eff}$ 를 측정하는 실험장치

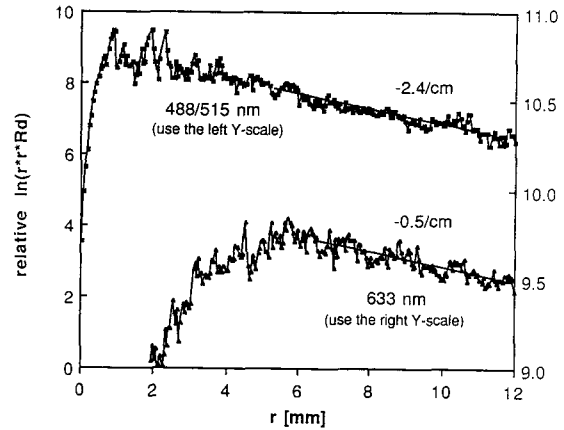


그림2:  $\ln(r^2 Rd)$ 의 측정값. chicken breast를 샘플로 사용. 스케일은 상대적임.

그림 2의 경우 chicken breast를 대상으로 Argon laser와 HeNe laser를 사용  $Rd(r)$ 을 측정한 것이다.  $\mu_{eff}$ 는 식 (1)에 curve-fitting시켜 각각 2.4/cm와 0.5/cm의 값을 구하였다. 여기서 흡수계수와 실제산란계수값을 분리하는 Patterson [7] 등이 제시한 방법은 computer simulation의 확인에 의한 바 그대로 사용하기에 너무 부정확한 것으로 판명되었다.

coherent backscattering에 의한 방법은 波의 constructive interference를 이용한 방법이다 [8]. 레이저빔을 조사한 정확히 반대방향으로 산란된 빛은 주위의 다른 각도로 산란된 빛에 비하여 강도가 거의 2배에 이른다. 이것을 coherent peak이라고 하는데 수 milliradian 内에서 일어나기 때문에 산란된 총에너지에 비하면 극히 적은  $10^{-6}$  정도 밖에 되지 않지만 광학적인 방법으로 이 산란된 빛의 angular distribution을 정확하게 측정할 수 있다.

coherent peak의 형상이 흡수계수와 실제산란계수와의 함수로 나타내는 것을 Akkermans 등이 제시하였다 [8]. 실험 데이터를 이 식에 curve fitting시켜 계수값을 구할 수 있다. 그림 3과 같은 실험장치를 이용 레이저빔의 반대방향으로 산란된 빛의 분포를 각도에 대하여 측정하였다.

산란을 일으키는 우유를 사용하여 측정한 예가 그림 4에 나타나 있는데 다양한 우유 농도에 따라 계수들을 측정하고 이를 적분구를 사용하여 실험한 값을 비교한 결과 산란이 많은 물질의 경우 더 만족할만한 한 결과를 얻었다. 그림 4에서 모델에 계산된 값은 흡수계수가 1/cm,

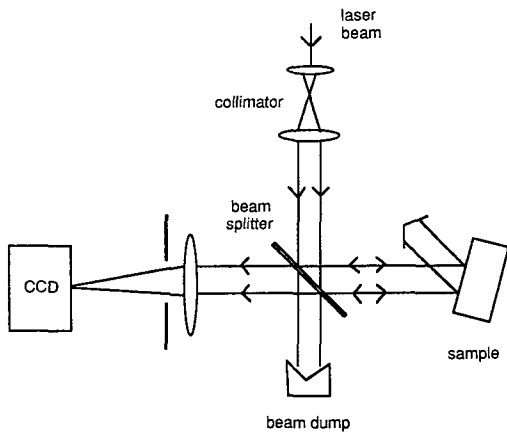


그림 3: coherent peak 측정 장치

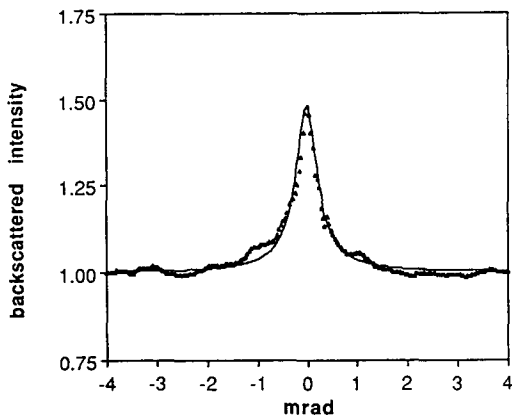


그림 4: 우유에서 일어나는 coherent peak값 측정과  $\mu_s=1/cm$ ,  $\mu_s=31.4/cm$ 일 때의 이론 값(線으로 표시)

산란계수는 31.4/cm이다. 사람의 forearm의 경우 개인에 따라 차이가 많이 나겠지만 흡수계수는 1/cm 이하, 실제산란계수는 ~ 25/cm 정도로 나타났다.

비침습적방법의 경우 산란된 빛의 경로에 따라 averaging이 되기 때문에 한 곳의 특징값을 나타내기 보다는 bulk값이 된다. 지역에 따라 광학계수의 값이 변화가 적은 同質의 매체에 사용하는 것이 바람직하다.

### 결론

광학계수의 측정은 레이저빛의 투과정도, 열적손상등을 예측할 수 있는 중요한 일이다. 그러나 어떤 방법을 사용하여 측정하느냐 하는 문제는 간과되어 왔다. 샘플을 준비하기 쉬운 경우는 R, T등을 측정하여 광학계수를 역산하는 방법이 있다. 가능한 정확한 값을 구하고자 하

는 경우 asymptotic method가 바람직한 것으로 판단된다. 파장에 따른 상대적인 티코등이 문제가 되는 경우 한 샘플로 부터 값을 추정해도 좋을 것이다.

비침습적 방법에는 여러가지가 연구되고 있으나 실험장치들이 복잡해 진다. effective attenuation coefficient만을 측정할 경우 spatial correlation method가 효과적이다. 그러나 흡수계수와 실제산란계수를 분리하기 위해선 추가적인 연구가 필요하다. coherent backscattering method는 산란이 많이 일어나는 파장에서는 정확도가 높은 것으로 나타나 대부분의 의료용 레이저의 응용분야에 사용될 수 있을 것으로 판단된다.

### REFERENCES

1. W.G. Egan and T.W. Hilgeman, Optical Properties of Inhomogeneous Materials, New York: Academic, 1979
2. P. Kubelka, New contributions to the optics of intensely light scattering materials, J. Opt. Soc. A., 38:5:448-457, May 1948
3. S. Chandrasekar, Radiative Transfer, London, Oxford University Press, 1960
4. A. Ishimaru, Wave propagation and scattering in random media, New York, Academic, 1978 vol.1
5. G. Yoon, A.J. Welch, M. Motamedi and MCJ van Gemert, Development and application of 3-D Light distribution model for laser irradiated tissue, IEEE J. Quan. Elec., 23: 10:1721-1733, 1987
6. M. Patterson, J.D. Moulton, B.C. Wilson and B.Chance, Applications of time-resolved light scattering measurements to PDT therapy dosimetry, SPIE vol 1203, 1990
7. M. Patterson, E. Schwartz and B.C. Wilson, Quantitative reflectance spectrophotometry for the non-invasive measurement, SPIE vol 1065: 115-122, 1989
8. S. John, Localization of light, Phys. Today, 44:5:32-40, 1991
9. E. Akkermans, P.E. Wolf, R. Maynard and G. Maret, Theoretical study of the coherent backscattering of light by disordered media, J. Phys (France) 49:77-98, 1988