

가정용 레이저 무혈 혈중성분 분석기술 개발

윤길원, 김종원¹⁾, 박승한²⁾, 정영봉³⁾, 김선우, 김연주, 전계진, 김홍식, 김주병, 김원기
 삼성생명과학연구소, 삼성의료원 임상병리과¹⁾, 연세대학교 물리학과²⁾, 한국표준과학연구원³⁾

Non-invasive Laser Diagnosis of Blood Substances for Home Monitoring

G. Yoon, J.W. Kim¹⁾, S.H. Park²⁾, Y.B. Chung³⁾, S.W. Kim, Y.J. Kim,
 K.J. Jeon, H.S. Kim, J.B. Kim, W.K. Kim

Samsung Biomedical Research Institute, Department of Clinical Pathology, Samsung Medical Center¹⁾,
 Department of Physics, Yonsei University²⁾, Korean Research Institute of Standards and Science³⁾

연구개발 목표

병원뿐만 아니라 가정에서도 손쉽게 사용할 수 있는 무혈진단기기의 개발은 진단을 위해 혈액을 채취하는 번거로움과 아픔이 전혀 없이 일반인의 건강보전에 크게 기여할 일반적인 기기로서 미래에는 각종 검사 기능을 종합적으로 수행할 수 있을 것이다. 세계적으로 많은 연구가 진행되고 있으나 국내의 연구는 미약하다 할 수 있다. 이에 무혈진단기기 개발의 기반 기술이 될 수 있는 혈액을 채취하지 않고 헤모글로빈 등 혈중성분을 진단할 수 있는 알고리즘의 개발을 본 과제의 최종 목표로 하고 있다.

연구개발의 내용 및 결과

1. 헤모글로빈 진단 알고리즘의 개발

연구개요 주파수 영역 분광법을 이용하여 산란이 많이 일어나는 생체와 같은 혼탁한 매질의 광학 계수 측정에 관해 연구하였다. 광원으로 LED (light emitting diode)를 사용하였고 두개의 주파수를 이용하여 매질의 광학적 특성을 측정하였다. 총 광원의 세기를 고려하지 않는다면 LED는 효율적으로 모듈레이션된 광원의 기본조건을 훨씬 능가하는 경제성, 소형화, 안전성 등의 몇 가지 중요한 장점을 가지고 있다. Heterodyne detection방법을 사용하여 위상차이와 진동성분의 진폭을 측정하였다. 이론식과 실험치를 곡선맞춤하여 펜텀의 광학계수를 얻었다.

실험 결과 및 토의 본 연구에서 수행한 실험 장치는 Fig. 1과 같다. 그림에서와 같이 광원으로는 fast response time를 갖는 Hewlett-Packard 사의 light emitting diode(LED)를 사용하였다.

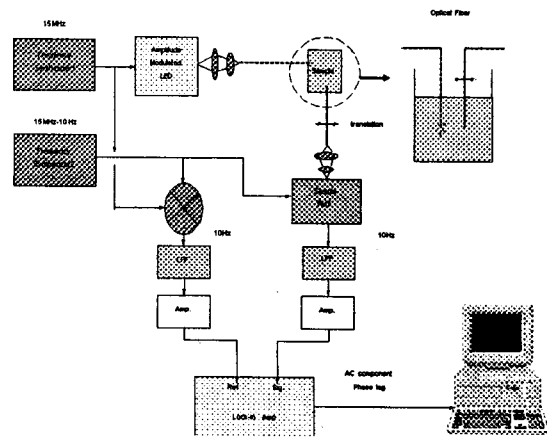


Fig 1. 주파수 영역 분광법을 이용한 생체의 광학계수 측정 실험 장치

시료는 100% 우유 용액의 펜텀을 사용하였으며 변조주파수 10 MHz와 14 MHz에서 측정거리에 따른 phase lag과 AC 성분의 변화를 측정하였으며, 측정 광섬유는 직경이 600 μm 의 multi-mode 유리 광섬유를 사용하였다. 생체 조직이 나타내는 광학계수를 측정하기 위해서는 변조주파수가 약 100 MHz가 되어야 위상변이를 측정할 수 있는 한계에 들어온다. 그러나 흡수계수가 작은 산란매질은 약 10 MHz에서도 위상 변화를 충분히 측정할 수 있었다.

Fig 2.는 용액 내에서 대해 amplitude modulation의 주파수가 10 MHz일 때 AC 성분과 위상변이를 실험결과와 곡선맞춤한 결과이다. Fig 3.에서 용액 내에서 amplitude modulation의 주파수가 14 MHz일 때 AC 성분과 위상변이를 곡선 맞춤한 결과를 보여 주었다.

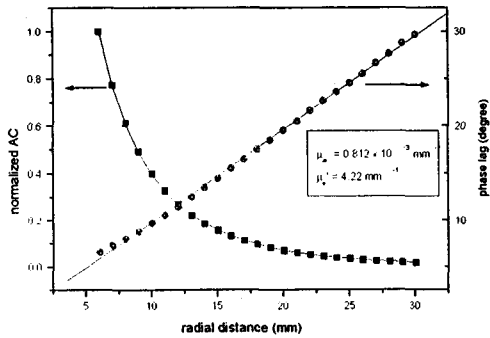


Fig 2. 모듈레이션 주파수 10 MHz에서 매질 내에서 측정된 fluence rate의 phase lag 과 AC 성분의 실험data와 이론에 의한 곡선맞춤의 결과

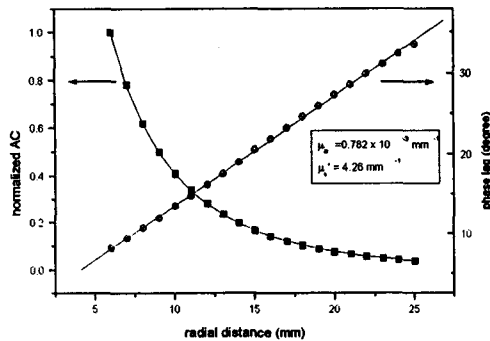


Fig 3. 모듈레이션 주파수 14 MHz 에서 매질 내에서 측정된 fluence rate의 phase lag 와 AC 성분의 실험 data와 곡선맞춤의 결과

모듈레이션 주파수 14 MHz 에서 매질 내에서 두 진폭 변조주파수에 대해 계산된 산란계수와 흡수 계수는 5% 오차 이내에서 동일한 결과를 보여주었다. AC 성분의 감쇠로부터 세기가 변조된 광의 침투깊이를 알 수 있으며, 위상의 변이로부터 평균 path length를 알 수 있다. 사용한 시료는 100% 우유인데 이는 산란계수가 크고 흡수계수가 작은 매질이므로 비교적 낮은 변조주파수에서도 위상변이 효과를 볼 수 있다. 매질 내에 광원과 검출기를 넣어서 측정할 경우 이 위상변이는 측정거리에 선형적으로 변하였고, 변조 주파수가 클수록 위상변이가 더 커짐을 확인하였다. 사용하는 주파수 대역을 ~100 MHz 까지 확대하여 생체조직의 흡수계수 영역에 관해서도 측정할 계획에 있다. 광원 LED의 장점을 최대한 활용할 수 있다면 혈중 성분의 측정에 응용할 수 있을 것이다.

2. 가정용 빈혈진단기 H/W 개발

인텔사의 N80C196KC를 사용한 CPU로부터 각 파장과 광량이 제어되어진 3파장의 제어신호로 프로브의 LED를 구동한다. 프로브 반대편의 광검출기에서 검출된 진기신호가 진치증폭기를 거치면서 가변 증폭 제어되는 직류증폭기에서 증폭된 각 파장별 직류 레벨을, 또한 증폭된 신호에서 각 파장별로 필터링 및 가변 증폭 제어되는 교류증폭기에서 동맥의 박동 신호를 분리 증폭하여 얻은 교류레벨을 각각 샘플 홀드처리를 통해 CPU의 A/D 입력포트에 입력한다.

선택되어 입력 처리된 각 파장의 신호레벨들이 A/D 변환 처리되어 10BIT 디지털 값이 메모리에 저장, 처리되어진다. 그 저장된 데이터를 진단 알고리즘에 의해 연산 처리하여 저장하고 표시하는 자체 기능과, 측정값 또는 연산 처리된 진단값을 PC로 전송한다.

기기의 동작상황과 처리된 각 표시값을 LCD 모듈에 표시하며, 컴퓨터와 연결할 수 있는 RS-232C 직렬포트, 프린터와 연결할 병렬포트, 타 기기와의 연결을 위한 RS-422A 직렬포트등을 통해 각 상황 및 처리값이 전송되어지고, 기기의 동작을 제어하기 위한 키패드 등으로 구성된다. 그 외에 기기 동작의 명령이 기록된 프로그램 롬, 현재의 시간과 주요 설정값을 제공하는 리얼타임클럭, 각 주변회로가 정확하게 액세스 가능하도록 입출력 디코더가 시스템을 구성하고 있다.

3. 글루코즈, 콜레스테롤, 알코올의 흡수스펙트럼 특성조사 및 분석

전혈의 scattering 효과를 보정하기 위해 적분구를 이용하여 total transmission을 측정, general transmission 측정법과 비교하여 보았다. 두 가지 측정방법에 의한 혈액스펙트럼은 Fig 4에 나타난다. 적분구를 이용한 스펙트럼 측정방법이 일반 투과측정법에 비해 baseline sloping 현상이 나타나지 않는다. 표본들의 총혈색소량은 혈액분석기로부터 얻어졌다. 두 가지 측정방법에 의해 얻어진 전체 spectra와 총혈색소량 사이의 상관관계를 얻고 있는 중이다. 또한 농도가 다른 글루코즈의 수용액상에서의 spectra로부터 1600nm 근처에서 글루코즈의 감음파장대를 얻어냈다. 글루코즈, 헤모글로빈, skin, fat, muscle, albumin의 근적외선 대역(800-1800nm)에서 spectra를 얻어냈다.

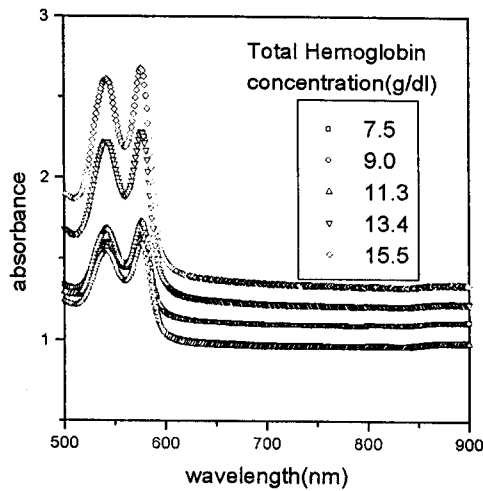


Fig 4a. general transmission 측정법에 의한 혈액 스펙트라

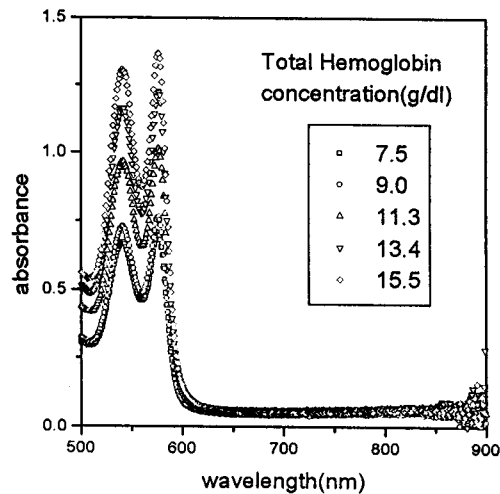


Fig 4b. 적분구를 이용하여 얻어진 혈액의 total transmission 스펙트라

4. 통계적인 자료처리에 의한 calibration 및 prediction

7g/dl ~ 17g/dl의 다양한 농도의 헤모글로빈을 함유하는 70개의 혈액을 500nm ~ 795nm 범위의 파장에서 측정된 흡수스펙트럼과 헤모글로빈의 양의 자료 중 임의로 추출된 20개의 자료를 prediction set으로 나머지 자료를 calibration set으로 이용하였다. Calibration이란 이미 측정된 흡수 스펙트럼과 헤모글로빈의 양의 자료 및 이에 대한 사전지식을 이용하여 흡수 스펙트럼과 헤모글로빈 양과의 수학적 관계식 또는 모형을 추정하는 과정이며 prediction이란 calibration 과정으로부터 추정된 관계식 또는 모형을

가지고 미지의 헤모글로빈 양을 예측하는 과정을 말한다. 측정된 자료에는 파장간에 상관성이 내재하여 있고 자료 고유의 정보 이외에 다른 noise가 포함되어 있으므로 자료추약과정을 통하여 이에 대한 문제를 해결할 수 있는 다변량 통계적 방법을 적용함이 바람직하다. PLS는 분광학 자료에 널리 사용되는 다변량 통계적 방법으로 먼저 296개의 파장에서 측정된 모든 자료에 적용하였다. Calibration 과정에서 calibration set에 대한 어느 정도의 자료추약이 적절한지를 알기 위한 기법으로는 cross validation을 적용하였다. 자료에 calibration 과정을 수행하기 전에 의적요인 및 noise 문제의 영향을 미리 제거하면 좀더 좋은 예측결과를 줄 수가 있는데 이러한 data preprocessing 방법으로 본 자료에 적절한 기법을 찾기 위해 여러 가지 기법을 적용해본 결과 Unit area normalization, Linear regression baseline fitting, Mean centering 및 Variance scaling 기법이 가장 좋은 예측결과를 주었다. (SEP = 0.5477, r = 0.9735) 그러나 실제로는 전 파장을 이용하여 헤모글로빈 양을 측정하기보다는 세 개 정도의 파장을 이용하게 되므로 이론상 가능한 모든 세 파장(파장간의 간격은 최소 40nm를 유지하도록 하고) 중 최적의 세 파장을 구하였는데 우선 Mean centering과 Variance scaling을 적용한 후 cross validation 기법과 PLS를 적용한 결과 파장이 518nm, 594nm, 642nm일 때가 예측에 대한 최적의 세 파장으로 계산되었다. (SEP = 0.9139, r = 0.9265) 전 파장을 이용한 prediction set의 예측결과와 최적의 세 파장을 이용하여 계산된 예측결과는 다음 그림과 같다.

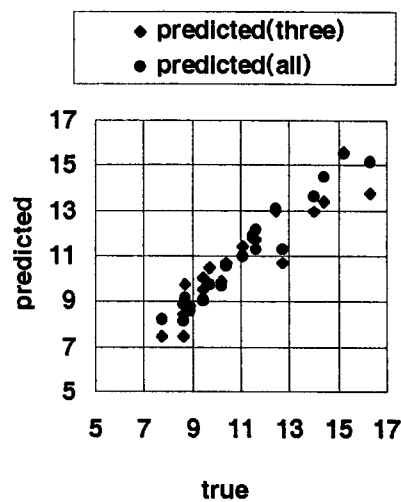


Fig 5. plots of predicted and true value of total hemoglobin in human blood

참 고 문 헌

1. M. S. Patterson, J. D. Moulton, B. C. Wilson, K. W. Berdt, and J. R. Lakowicz, "Frequency-domain reflectance for the determination of the scattering and absorption properties of tissue", *Appl. Opt.* **30**, 4174 (1991).
2. R. C. Haskell, L. O. Svaasand, T. T. Tsay, T. C. Feng and M. S. McAdams, and B. J. Tromberg, "Boundary condition for the diffusion equation in radiative transfer", *J. Opt. Soc. Am. A* **11**, 2727 (1994)
3. S. Fantini, M.A. Francechini, J. B. Fishkin, B. Barbieri, and E. Gratton, "quantitative determination of the absorption spectra of chromophores in strongly scattering media: a light-emitting-diode based technique", *Appl. Opt.* **33**, 5204 (1994)..
4. "Partial Least-Squares Methods for Spectral Analyses. 1. Relation to Other Quantitative Calibration Methods and the Extraction of Qualitative Information", David M. Haaland and Edward V. Thomas, *Anal. Chem.* 1988, 60, 1193-1202
5. "Partial Least-Squares Methods for Spectral Analyses. 2. Application to Simulated and Glass Spectral Data", David M. Haaland and Edward V. Thomas, *Anal. Chem.* 1988, 60, 1202-1208
6. "Matrix Representations and Criteria for Selecting Analytical Wavelengths for Multicomponent Spectroscopic Analysis", Chrls W. Brown and Patricia F. Lynch, Robert J. Obremski, Donald S. Lavery, *Anal. Chem.* 1982, 54, 1472-1479
7. "An example of 2-block predictive partial least-squares regression with simulated data", Paul Gela, Bruce R. Kowalski, *Analytica Chimica Acta* 1986, 185, 19-32

Acknowledgements :

본 연구는 '96년도 보건의료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임.(# HMP-95-G-1-4)