



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0019950  
(43) 공개일자 2016년02월22일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61B 5/0295 (2006.01) A61B 5/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
A61B 5/0295 (2013.01)  
A61B 5/0071 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2016-7000943
- (22) 출원일자(국제) 2014년06월16일  
심사청구일자 2016년01월13일
- (85) 번역문제출일자 2016년01월13일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2014/002184
- (87) 국제공개번호 WO 2015/001427  
국제공개일자 2015년01월08일
- (30) 우선권주장  
61/835,408 2013년06월14일 미국(US)

- (71) 출원인  
노바다크 테크놀러지즈 인코포레이티드  
캐나다, 엘4더블유 4티9, 온타리오주, 미시소가,  
스위트 202, 익스플로러 드라이브 5090
- (72) 발명자  
플라워, 로버트, 더블유.  
미국, 메릴랜드 21030, 헌트 밸리, 델우드 코트  
11
- (74) 대리인  
청운특허법인

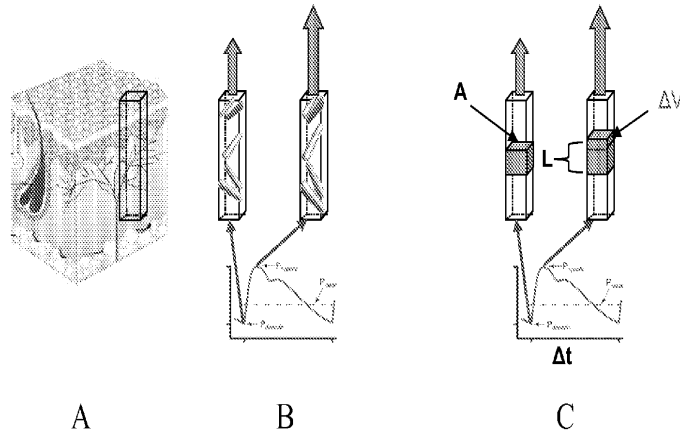
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 **형광 매개 광혈류량측정을 사용하여 조직에서 절대 혈류 흐름의 정량화**

**(57) 요약**

광혈류량측정과 협력하는 근-적외선 형광 혈관조형 (형광-매개 광혈류량측정)을 사용하여 조직에서 절대 혈액 흐름의 정량화를 위한 방법 및 시스템은 제공된다. 본 발명의 방법 및 시스템은 형광 강도의 측정에 기초하여 부피/시간/면적의 측면에서 흐름의 절대, 실-시간 측정을 제공한다.

**대표도** - 도2



(52) CPC특허분류

*A61B 5/0275* (2013.01)

*A61B 5/6826* (2013.01)

---

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

조직 부피 말단의 단면적을 측정하는 단계;

혈액량 층의 두께 증가를 측정하는 단계;

펄스 듀티 사이클을 결정하는 단계;

단일 혈압 펄스의 지속기간을 결정하는 단계; 및

하기 수학 식 1에 따라, 총 혈액 흐름인, F를 유도하는 단계를 포함하는 피부 조직과 같은 관심의 조직 면적에서 맥관구조를 통해 총 혈액의 흐름을 결정하는 방법:

[수학 식 1]

$$F = (A) (\Delta L) (P_{DC}) / \Delta t$$

여기서,  $\Delta V = (\text{조직 부피 말단의 단면적}, A) \times (\text{혈액량 층인}, L \text{의 두께 증가}, \Delta L)$ 이고,  $P_{DC}$ 은 펄스 듀티 사이클이며,  $\Delta t$ 는 단일 압력 펄스의 지속기간이다.

**청구항 2**

청구항 1에 있어서,

상기 방법은 관심의 조직 면적을 공급하는 맥관구조로 적절한 부피의 형광 염료를 투여하는 단계; 및

상기 관심의 조직 면적의 연속적인 혈관조형 영상을 얻는 단계를 포함하는 형광 영상 프로토콜을 더욱 포함하는 피부 조직과 같은 관심의 조직 면적에서 맥관구조를 통해 총 혈액의 흐름을 결정하는 방법.

**청구항 3**

청구항 2에 있어서,

상기 형광 염료는 ICG인 피부 조직과 같은 관심의 조직 면적에서 맥관구조를 통해 총 혈액의 흐름을 결정하는 방법.

**청구항 4**

청구항 3에 있어서,

상기 ICG는 25-50 mg/ml 사이의 농도로 투여되는 피부 조직과 같은 관심의 조직 면적에서 맥관구조를 통해 총 혈액의 흐름을 결정하는 방법.

**청구항 5**

청구항 2에 있어서,

상기 혈관조형 영상은 초당 20-30 프레임의 프레임 속도로 얻어지는 피부 조직과 같은 관심의 조직 면적에서 맥관구조를 통해 총 혈액의 흐름을 결정하는 방법.

**청구항 6**

청구항 2에 있어서,

상기 혈관조형 영상은 근-적외선 형광 영상 시스템에 의해 얻어지는 피부 조직과 같은 관심의 조직 면적에서 맥관구조를 통해 총 혈액의 흐름을 결정하는 방법.

**청구항 7**

청구항 6에 있어서,

상기 영상 시스템은 ICG의 여기를 위한 레이저 및 ICG에 의해 방출된 형광의 영상을 포획하기 위한 카메라를 포함하는 피부 조직과 같은 관심의 조직 면적에서 맥관구조를 통해 총 혈액의 흐름을 결정하는 방법.

**청구항 8**

조직 부피를 공급하는 맥관구조로 적절한 부피의 형광 염료를 투여하는 단계;

상기 조직 부피의 연속적인 혈관조형 영상을 얻는 단계;

상기 조직 부피의 연속적인 혈관조형 영상에 대한 평균 형광 강도를 계산하는 단계; 및

시간-가변성 평균 형광 강도의 플롯을 발생시키는 단계를 포함하는 조직 부피를 통한 절대 혈액 흐름을 정량화하기 위한 방법.

**청구항 9**

청구항 8에 있어서,

상기 형광 염료는 인도시아닌 그린 (ICG)인 조직 부피를 통한 절대 혈액 흐름을 정량화하기 위한 방법.

**청구항 10**

청구항 9에 있어서,

상기 ICG는 25-50 mg/ml 사이의 농도로 투여되는 조직 부피를 통한 절대 혈액 흐름을 정량화하기 위한 방법.

**청구항 11**

청구항 8에 있어서,

상기 조직 부피는 피부 조직을 포함하는 조직 부피를 통한 절대 혈액 흐름을 정량화하기 위한 방법.

**청구항 12**

청구항 8에 있어서,

상기 혈관조형 영상은 초당 약 20-30 프레임의 프레임 속도로 얻어지는 조직 부피를 통한 절대 혈액 흐름을 정량화하기 위한 방법.

**청구항 13**

청구항 8에 있어서,

상기 혈관조형 영상은 근-적외선 형광 영상 시스템에 의해 얻어지는 조직 부피를 통한 절대 혈액 흐름을 정량화하기 위한 방법.

**청구항 14**

청구항 13에 있어서,

상기 영상 시스템은 ICG의 여기를 위한 레이저 및 ICG에 의해 방출된 형광의 영상을 포획하기 위한 카메라를 포함하는 조직 부피를 통한 절대 혈액 흐름을 정량화하기 위한 방법.

**발명의 설명**

**기술분야**

[0001]

본 출원은 2013년 6월 14일자로 출원된 미국 가 특허출원 제61/835,408호에 우선권을 주장하며, 이의 개시는 참

조로서 여기에 혼입된다.

[0002] 본 발명은 일반적으로 조직에서 혈액 관류 (blood perfusion)의 광학적 평가의 분야에 관한 것으로, 특히 조직에서 절대 혈액 관류 (absolute blood perfusion)의 정량적 평가에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0003] 조직 (예를 들어, 피부) 혈액 관류 평가의 정량화는, 많은 외과적 및 비외과적 특수성에 걸친 적용으로, 의사들 사이에서 관심이 빠르게 성장되고 있다. 비록 간단한 이중 평가 (흐름 (flow) 대 비-흐름)는 몇몇 임상적 적용에 대해 적절할 수 있을지라도, 몇몇 표준에 대한 정량화는 많은 다른 임상적 적용에 대해 요구된다. 점점 더, 절대 조건 (예를 들어, 흐름의 측정으로 부피/시간)에서 정량화는 흥미롭다. 그러나, 임상 평가의 도구로서 조직에서 절대 혈액 관류의 정량적 평가는 찾기 힘들었다.

[0004] 광혈류량측정 (Photoplethysmography) (PPG)은 미소혈관계 (microvasculature)에서 혈액량 변화를 검출하기 위해 사용된 광학 기술이다. PPG에서 관찰된 파형 (waveform)은 심장박동과 관련 있고, PPG-계 기술은 산소 포화도, 혈압 및 심박출량 (cardiac output)과 같은 측정 파라미터에 대한 상업적으로 이용가능한 의료 장비에 효율적으로 사용되어 왔다.

[0005] PPG 검사 (detection)에 기초한 의료 장비의 상대적으로 광범위한 배치에도 불구하고, PPG는 조직 혈액 관류의 절대 측정의 일상적인 결정을 용이하게 하는데 활용되지 않아왔다. 이러한 역량을 갖는 방법론은 의학자에서 의미 있는 가치일 것인데, 이는 부피/시간/면적의 치수들을 갖는 조직 혈액 관류 측정의 일상적인 획득을 가능하게 하기 때문이다. 오직 이러한 치수들을 갖는 측정들은 유효한, 직접 내부-부위 (inter-site) 및 내부-대상 (inter-subject) 비교를 감안한다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0006] 그러므로, 조직에서 절대 혈액 관류의 정량적 평가를 위한 방법 및 시스템에 대한 요구가 있다.

**과제의 해결 수단**

[0007] 본 발명의 하나의 관점에 따르면, 예를 들어, 피부 조직과 같은 관심의 조직에서 맥관구조 (vasculature)를 통해 총 혈액의 흐름 (aggregate flow of blood)을 결정하기 위한 방법은 제공된다. 상기 방법은 조직 부피 말단의 단면적을 측정하는 단계, 혈액량 (blood volume) 층의 두께 증가를 측정하는 단계, 펄스 듀티 사이클 (pulse duty cycle)을 결정하는 단계, 단일 혈압 펄스의 지속시간을 결정하는 단계, 및 하기 수학 식 1에 따라, 총 혈액 흐름인, F를 유도하는 단계를 포함한다:

[0008] [수학 식 1]

[0009] 
$$F = (A) (\Delta L) (P_{DC}) / \Delta t$$

[0010] 상기 수학 식 1에서,  $\Delta V = (\text{조직 부피 말단의 단면적}, A) \times (\text{혈액량 층인}, L \text{의 두께 증가}, \Delta L)$ 이고,  $P_{DC}$ 은 펄스 듀티 사이클이며,  $\Delta t$ 는 단일 압력 펄스의 지속기간이다.

[0011] 또 다른 관점에 있어서, 상기 방법은 관심의 조직 면적 (tissue area)을 공급하는 맥관구조로 적절한 부피의 형광 염료 (fluorescence dye)를 투여하는 단계, 및 관심의 조직 면적의 연속적인 혈관조형 (angiographic) 영상을 얻는 단계를 포함하는 형광 영상 프로토콜을 포함한다. 또 다른 관점에 있어서, 상기 형광 염료는, 약 25-50 mg/ml 사이의 농도로 투여되는, 인도시아닌 그린 (indocyanine green) (ICG)이다. 또 다른 관점에 있어서, 혈관조형 영상은 초당 20-30 프레임 (frames)의 프레임 속도로 얻어지고, 이러한 영상은 근-적외선 형광 영상 시스템에 의해 얻어진다. 다양한 관점에 있어서, 상기 영상 시스템은 ICG의 여기를 위한 레이저 및 ICG에 의해 방출된 형광의 영상을 포획하기 위한 카메라를 포함한다.

[0012] 본 발명의 또 다른 관점에 따르면, 조직 부피를 통한 절대 혈액 흐름을 정량화하기 위한 방법은 제공된다. 상기 방법은 조직 부피를 공급하는 맥관구조로 적절한 부피의 형광 염료를 투여하는 단계, 상기 조직 부피의 연속적인 혈관조형 영상을 얻는 단계, 상기 조직 부피의 연속적인 혈관조형 영상에 대한 평균 형광 강도를 계산하는 단계, 및 시간-가변성 평균 형광 강도의 플롯 (plot)을 발생시키는 단계를 포함한다. 다양한 관점에 있어서,

상기 형광 염료는 인도시아닌 그린 (ICG)이고, 상기 ICG는 약 25-50 mg/ml 사이의 농도로 투여되며, 상기 조직 부피는 피부 조직을 포함한다. 다양한 또 다른 관점에 있어서, 상기 혈관조형 영상은 초당 약 20-30 프레임의 프레임 속도로 얻어지고, 또 다른 관점에 있어서, 상기 혈관조형 영상은 근-적외선 형광 영상 시스템에 의해 얻어진다. 다양한 관점에 있어서, 상기 영상 시스템은 ICG의 여기를 위한 레이저 및 ICG에 의해 방출된 형광의 영상을 포획하기 위한 카메라를 포함한다.

**도면의 간단한 설명**

본 발명의 구현 예를 예시하는 첨부된 도면에 있어서,

도 1은 종래의 광혈류량측정 (PPG)을 사용하여 단일 혈압 펄스 동안 총 핑거팁 혈액량의 측정을 예시하는 개략도;

도 2의 A-C는, 형광 강도에서 변화를 검출하여, 표면적, A를 갖는 조직의 부피 (일부)에서 혈액량의 시간-가변성 변화 (time-varying changes)를 측정하는데, 구현 예에 따라, 형광-매개 광혈류량측정 (FM-PPG)의 사용을 예시하는 개략도;

도 3의 A-B는 혈관 (blood vessel)을 통한 인도시아닌 그린 (ICG)의 이동 동안 인도시아닌 그린 (ICG) 농도 및 형광 강도 사이에 시간-가변성 관계를 개략적으로 나타내는 개략도;

도 4의 A-B는 0.03 mg/ml 농도 ICG 용액을 함유하는 테이퍼된 모세관 (tapered capillary tube)의 형광 영상 및 모세관 직경 및 형광 강도 사이에 최종 선형 관계의 그래프를 나타내는 개략도;

도 5는 주맥 (cubital vein)에 ICG 용액의 주사 후 사람의 팔뚝 피부의 면적으로부터 방출된 시간-가변성 평균 형광 강도의 플롯;

도 6은 모세관 두께의 함수로서 0.03 mg/ml 농도 ICG 용액을 함유하는 테이퍼된 모세관으로부터 방출된 형광 강도의 플롯과 연관된 일련의 PPG 진동을 나타내는 개략도;

도 7은 몰 농도 (molar concentration)의 함수로서 혈액에서 ICG에 의해 방출된 약 850 nm 및 900 nm를 주된 대상으로 한 파장 대역의 강도의 비의 관계를 예시하는 개략도;

도 8은 본 발명의 FM-PPG 방법론을 실행하기 위한 구현 예에 따른 광학 부품의 배열을 포함하는 대표적인 영상 시스템;

도 9는 여기에 함유된 본 발명의 어떤 작동 예로부터 시간-가변성 평균 강도 그래프의 일부분 (segments);

도 10은 에탄올에서 ICG에 대해 구성된 2-파장 비율계량 보정 곡선 (ratiometric calibration curves)에 대한 샘플 두께의 영향을 예시하는 개략도;

도 11은 사람 혈액에서 ICG에 대해 구성된 2-파장 비율계량 보정 곡선에 대한 샘플 두께의 영향을 예시하는 개략도;

도 12는 5 데이터 점 (data points)으로부터 중간값을 채운 보정 곡선을 예시하는 개략도;

도 13은 사람 혈액에서 ICG에 대한 베레진 실험 데이터 (Berezin laboratory data)를 예시하는 개략도;

도 14는 본 발명의 FM-PPG 대표적인 방법 및 시스템을 사용하여 발생된 데이터 (도 12)와 사람 혈액에서 ICG에 대한 베레진 실험 데이터 (도 13)와의 비교를 나타낸 개략도;

도 15는 붉은 털 원숭이 눈 (Rhesus monkey eye)으로부터의 유효 데이터 (validation data), 특히, 영상 휘도 (brightness) (총 강도) 대 영상 수 (image number)의 시간 플롯에서 각 시퀀스 (sequence)의 분석을 위한, 유효 데이터를 나타내는 그래프;

도 16은 붉은 털 원숭이 눈으로부터의 유효 데이터, 특히, 영상 490-565에 대해 발생된 플롯으로부터의 유효 데이터를 나타내고, 여기서 2 연속 혈액 흐름 펄스들 사이에 밸리 (valleys)는 선택되고 (정상각형); 표는 각 펄스에 대한 계산된 혈액 흐름, 뿐만 아니라 평균 흐름을 나타내는 개략도;

도 17은 붉은 털 원숭이 눈으로부터의 유효 데이터와 연관된 제2 혈관조영 시퀀스 (angiogram sequence)를 나타내는 개략도;

도 18은 영상 300-381에 대해 발생된 플롯을 나타내고, 여기서 5 연속 혈액 흐름 펄스들 사이에 밸리는 선택되

[0013]

고 (정사각형); 표는 각 펄스에 대한 계산된 혈액 흐름, 뿐만 아니라 평균 흐름을 나타내는 개략도;

도 19는 붉은 털 원숭이 눈으로부터의 유효 데이터와 관련하여 제3 혈관조영 시퀀스를 나타내는 개략도;

도 20은 영상 260-290에 대해 발생된 플롯을 나타내고, 여기서 두 개의 연속 혈액 흐름 펄스들 사이에 벨리는 선택되고 (정사각형); 표는 각 펄스에 대한 계산된 혈액 흐름, 뿐만 아니라 평균 흐름을 나타내는 개략도; 및

도 21의 A-B는 사람 눈 혈관조영으로부터의 영상 (도 21의 A) 및 본 명세서에 기재된 바와 같은 Aim 및 Bill에 의해 사용된 원숭이의 왼쪽 눈으로부터 평면-고정 맥락막 (flat-mounted choroid)의 방사능 사진상에 중첩된 박스로서 표현된 망막 영역 (retinal area)으로부터의 영상 (도 21의 B)이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0014] 이하 본 발명의 다양한 관점 및 변형의 구현 예 및 실행에 대해 좀더 구체적으로 설명할 것이고, 이의 실시 예들은 첨부된 도면에서 예시된다.

[0015] 종래의 광혈류량측정 (PPG)은 조직을 통해 전도된 근-적외선 광의 양적 변화를 검출하여 조직의 부피 (통상적으로 핑거팁)에서 혈액 양의 시간-가변성 상대적 변화를 측정하는데; 광 경로에서 혈액의 양이 커질수록, 흡수된 광의 양은 커진다. 맥관구조 내 (intravascular) 압력 펄스 심장 확장기 (pressure pulse diastole) 동안, 상기 핑거팁 혈관에서 총 부피는 가장 적고, 심장 수축기 (systole) 동안, 상기 부피는, 단일 혈압 펄스 동안 총 핑거팁 혈액량의 종래의 PPG 측정을 보여주는, 도 1에서 예시된 바와 같이, 가장 크다.

[0016] 반면에, 본 발명의 다양한 관점에 따른, 형광-매개 광혈류량측정 (FM-PPG)는 조직 부피 (일부)로부터 방출된 근-적외선 형광 광의 양적 변화를 검출하여 조직의 부피 (예를 들어, 피부)에서 혈액의 양의 상대적 시간-가변성 변화를 측정한다. FM-PPG에 있어서, 다양한 구현 예에 따르면, 형광 강도는 혈액에 존재하는 형광 염료 (예를 들어, 인도시아닌 그린 (ICG) 염료)의 총 양에 직접 비례하며, 따라서 혈액량의 측정이 가능하다. 다양한 구현 예에 있어서, 절대 조직 관류의 정량을 위한 FM-PPG의 실행은 혈관조영 시퀀스에서 영상 (또는 다수의 영상)의 획득 동안 대상의 순환 혈액에서 형광 염료의 몰 농도 (molar concentration)의 결정을 허용한다.

[0017] 다양한 구현 예에 따르면, FM-PPG 및 예를 들어, 형광 농도 퀸칭 (quenching) 및 농도와 이중-과장 비율계량 형광 측정 사이의 선형 관계와 같은, 투여된 형광 염료의 어떤 특징은 부피/시간/면적의 절대 측면에서 조직 (예를 들어, 피부) 혈액 흐름의 결정을 가능하게 한다. 다양한 구현 예에 있어서, 본 발명의 방법 및 시스템은 조직 (예를 들어, 피부 및 안구 기저부 (ocular fundus)) 면적의 넓은 크기 범위가, 예를 들어, 약 1 cm<sup>2</sup> 미만으로부터 약 1/4 mm<sup>2</sup>인 크기를 가로질러 적용될 수 있다.

[0018] 다양한 구현 예에 있어서, 적절한 형광 염료는 형광 염료가 형광을 유발하기에 충분한 양으로 광 에너지에 노출된 경우 형광을 일으키는 어떤 비-독성 염료를 포함하고, 이에 의해 대상 조직 면적의 영상화를 허용한다. 다양한 구현 예에 있어서, 상기 염료는 방사 에너지의 적절한 과장이 적용된 경우 형광이 검출될 수 있도록 적절한 농도로 투여될 수 있다. 어떤 구현 예에 있어서, 상기 염료는 적외선 스펙트럼 (infrared spectrum)에서 광을 방출하는 형광 염료이다. 어떤 구현 예에 있어서, 상기 염료는 인도시아닌 그린 (ICG)과 같은 트리카보시아닌 염료 (tricarboyanine dye)이다. 다른 구현 예에 있어서, 상기 염료는 형광체 이소티오시아네이트 (fluorescein isothiocyanate), 로다민 (rhodamine), 피코에리트린 (phycoerythrin), 피코시아닌 (phycocyanin), 알로피코시아닌 (allophycocyanin), o-프탈알데히드 (o-phthaldehyde), 플루오레스아민 (fluorescamine), 로즈 벵갈 (rose Bengal), 트립판 블루 (trypan blue), 플루오로-골드 (fluoro-gold), 또는 이의 조합으로부터 선택된다. 전술된 염료는 어떤 구현 예에서 혼합 또는 조합될 수 있다. 몇몇 구현 예에 있어서, 유사 염료 (dye analog)는 사용될 수 있다. 유사 염료는 화학적으로 변형되지만, 적절한 과장의 방사 에너지에 노출된 경우 형광을 내는 능력을 여전히 보유하는 염료를 포함한다.

[0019] 몇몇 구현 예에 있어서, 상기 염료는, 영상을 위한 적절한 농도로, 정맥주사로, 예를 들어, 한 회분 주사 (bolus injection)와 같이, 대상 (예를 들어, 포유류)에 투여될 수 있다. 다양한 구현 예에 있어서, 상기 염료는 정맥 또는 동맥에 주사된다. 다중 염료가 사용된 구현 예에 있어서, 이들은, 예를 들어, 단일의 한 회분으로 동시에, 또는 예를 들어 개별의 한 회분으로 순차적으로 투여될 수 있다. 몇몇 구현 예에 있어서, 상기 염료는 카테터 (catheter)에 의해 투여될 수 있다. 다양한 구현 예에 있어서, 상기 염료는 냉동 건조된 분말 또는 고체로서 제공될 수 있다. 어떤 구현 예에 있어서, 이것은 바이알, 예를 들어, 멸균 주사기로 적절한 농도에서 원상태로 복원을 가능하게 하는 멸균 바이알에 제공될 수 있다. 이것은 어떤 적절한 캐리어 (carrier) 또는 희석제를 사용하여 원상태로 복원될 수 있다. 캐리어 및 희석제의 예들은 하기에 제공된다. 상기 염료는

투여 바로 전에, 예를 들어, 물로 원상태로 복원될 수 있다.

[0020] 어떤 구현 예에 있어서, 상기 염료는 영상을 얻기 전 한 시간 미만에서 대상에 투여될 수 있다. 몇몇 구현 예에 있어서, 상기 염료는 영상을 얻기 전 30분 미만에서 대상에 투여될 수 있다. 다른 구현 예에 있어서, 상기 염료는 영상을 얻기 전 적어도 30초에서 투여될 수 있다. 다른 구현 예에 있어서, 상기 염료는 영상을 얻으면서 동시에 투여된다.

[0021] 다양한 구현 예에 있어서, 용액에 염료를 유지시킬 수 있는 어떤 희석제 또는 캐리어는 사용될 수 있다. 예를 들어, 상기 염료가 ICG인 어떤 구현 예에 있어서, 상기 염료는 물로 원상태로 복원될 수 있다. 상기 염료가 ICG인 다른 구현 예에 있어서, 상기 염료는 알코올, 예를 들어, 에틸 알코올로 원상태로 복원될 수 있다. 몇몇 구현 예에 있어서, 상기 염료가 원상태로 복원된 때, 이것은 부가적인 희석제 및 캐리어와 혼합될 수 있다. 몇몇 구현 예에 있어서, 상기 염료는, 예를 들어, 용해도를 향상시키거나 또는 안정성을 향상시키기 위해, 또 다른 분자, 예를 들어, 단백질, 펩타이드, 아미노산, 합성 고분자, 또는 당과 복합될 (conjugated) 수 있다. 어떤 구현 예에 사용될 수 있는 희석제 및 캐리어의 부가적 예로는 글리세린, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 폴리솔베이트 80, 트윈 (Tweens), 리포솜, 아미노산, 레시틴, 도데실 설페이트, 인지질, 데옥시콜레이트 (deoxycholate), 대두유 (soybean oil), 야채유 (vegetable oil), 홍화유 (safflower oil), 참기름 (sesame oil), 땅콩 오일 (peanut oil), 면실유 (cottonseed oil), 솔비톨 (sorbitol), 아카시아 (acacia), 알루미늄 모노스테레이트 (aluminum monostearate), 폴리옥실에틸레이트화 지방산 (polyoxyethylated fatty acids), 및 이의 혼합물을 포함한다. 부가적인 완충제 (buffering agents)는 Tris, HCl, NaOH, 포스페이트 버퍼, HEPES를 포함하여 선택적으로 첨가될 수 있다.

[0022] 다양한 구현 예에 따르면, FM-PPG는 대상에 형광 염료 (예를 들어, ICG)의 투여 (예를 들어, 정맥 주사) 후에, 조직 부피로부터 방출된 근-적외선 형광 광의 양의 변화를 검출하여 조직의 부피 (일부)에서 혈액의 양에서 시간-가변성 변화를 측정한다. 형광 강도는 혈액에 함유된 형광 염료 (예를 들어, ICG)의 총량에 비례한다.

[0023] 도 2의 A에서 나타난 피부 조직의 직사각형 부피 (조직의 일부) 내에 각각의 ICG-충진 용기 일부는 도 2의 B에 개략적으로 나타내고, 여기서 상기 용기 일부는 압력 펄스 심장 확장기 (diastole) (좌측) 및 심장 수축기 (systole) (우측)의 피크 동안을 나타낸다. (단면적, A를 갖는) 조직 부피의 표면상의 화살표는 각각의 혈관 일부분의 직경이 심장 확장기로부터 심장 수축기 수준으로 혈압이 상승함에 따라 증가하는 경우 일어나는 ICG 형광 강도에서 증가를 나타낸다. 도 2의 C는, 각각의 혈관 일부분의 총 부피를 단일 입방체 부피에 의해 나타낸 것을 제외하고는, 도 2B에 묘사된 기하학적 관계를 반복한 것이다. 부가적으로, 심장 확장기 및 심장 수축기의 압력 사이에 일어나는 혈액량 증가의 최대 양은  $\Delta V$ 로 나타낸다.

[0024] 단일 압력 펄스 진동 동안 직사각형 조직 부피를 통한 혈액 흐름의 총량은 펄스 곡선 아래의 면적에 비례한다. 만약 상기 압력 펄스가 방형-파 (square-wave)인 경우, 단일 펄스 동안 흐르는 총 부피는  $\Delta V$ 일 것이다. 그러나, 상기 압력 펄스 곡선이 방형-파가 아닌 경우라면, 실제 펄스 곡선 하에 면적은 방형-파 면적의 일부 (fraction)이다.

[0025] 그러므로, 펄스 듀티-사이클 (pulse duty-cycle) (PDC)은 실제 펄스 곡선 하에 면적에 의해 차지된 방형 파 하 면적의 일부로 정의될 수 있다. 따라서, 일 압력 펄스 사이클 동안 조직 부피를 통한 실제 혈액 흐름, F는:

[0026]  $F = (\Delta V) (P_{DC}) / \Delta t$ 이고, 여기서

[0027]  $\Delta V = (\text{조직 부피의 단면적, } A) \times (\text{혈액량 층, } L \text{의 두께 증가, } \Delta L)$ , 및

[0028]  $\Delta t = \text{단일 압력 펄스의 지속시간,}$

[0029] 그러므로, F는 하기 수학 식 1과 같다.

[0030] [수학 식 1]

[0031]  $F = (A)(\Delta L)(P_{DC}) / \Delta t$

[0032] 비록 절대 값이 A,  $P_{DC}$ , 및  $\Delta t$ 에 대해 결정될 수 있을지라도, 이전에 입증되었던  $\Delta L$ 을 일상적으로 결정을 위해 일상적으로 허용가능한 방법은 없다.  $\Delta L$ 이 길이/시간의 측면에서 정량적으로 결정될 수 있는 대표적인 알고리즘 구현 예는 하기에 기재된다.

[0033] 하나의 구현 예에 있어서, 형광 염료 (예를 들어, ICG)에 의해 표시된 농도-의존성 형광 퀀칭은  $\Delta L$ 이 길이/시

간의 측면에서 정량적으로 결정될 수 있는 방법을 제공한다. 농도-의존성 형광 퀀칭은 용액에서 어떤 염료에 의해 나타낸 현상이고, 여기서 상기 용액에 의해 방출된 형광 강도는 또 다른 농도 증가가 형광 감소를 결과하는 점 (points)을 넘어 도달될 때까지 염료 농도와 함께 증가한다. 예를 들어, 혈액에서 ICG에 대하여, 최대 형광은 0.025 mg/ml의 농도에서 일어나고 (Flower, R. W. and Hochheimer, B. F.: "Quantification of Indicator Dye Concentration in Ocular Blood Vessels", Exp. Eye Res., Vol. 25: 103, Aug. 1977 참조); 이러한 농도 이상 또는 이하에서, 형광 감소는, 혈관을 통한 ICG의 이동 동안 ICG 농도 및 형광 강도 사이에 시간-가변성 관계를 개략적으로 예시하는, 도 3의 A에서 나타낸 바와 같이, 상당히 급하게 일어난다. 도 3의 B는, 혈관 내의 고정된 위치에 대하여, 용기를 통해 ICG 염료 한 회분의 이동 동안 ICG 농도 (실선 곡선) 및 형광 강도 (파선) 사이에 시간-가변성 관계를 개략적으로 예시한다.

[0034] 도 3은 도 3의 A 및 도 3의 B 모두에서 염료 농도가 0.025 mg/ml인 점, 및 상기 농도가 형광 퀀칭이 발생하는 상당히 큰 수준인 점 (예를 들어, 이러한 예에 있어서, 약 10 배 큰)을 나타낸다. 도 3의 B는, ICG 한 회분이 혈관을 이동하고, 염료 농도가 증가 (실선 곡선)함에 따라, ICG 형광은 또한 증가하고 (파선), 염료 농도가 0.025 mg/ml에 도달될 경우 (좌측 화살표) 최대 강도에 도달하는 것을 나타낸다. 농도가 계속 증가함에 따라, 형광은 농도 형광 퀀칭에 기인하여 감소하여, 농도가 이의 최대 (이러한 예에서 약 0.250)에 도달하는 경우 최대 강도 (중간 화살표)에 도달한다. 이후, 농도는 감소하여, 0.025 mg/ml의 최대 수준 (우측 화살표)에 다시 도달할 때까지, 형광 강도를 증가시키고; 그 다음 농도가 계속 감소함에 따라, 형광은 다시 감소하기 시작한다.

[0035] 다양한 구현 예에 있어서, 충분히 높은 농도 및 부피 무결성 (integrity)의 ICG 한 회분의 이동 동안 일어나는 동일한 최대 형광 강도의 독특한 이중 피크는, 절대치 면에서, 도 2의 C에 묘사된, 혈액량 두께의 증가,  $\Delta L$ 을 결정할 수 있다. 피크가 0.025 mg/ml의 농도에서 발생하고, 피크가 발생하는 정확한 시간에 알려진 면적 (A)으로부터 방출된 형광 강도가 결정될 수 있기 때문에, 조명 및 배율의 동일한 조건 하에서 동일한 형광 강도를 방출하는 0.025 mg/ml ICG를 함유하는 혈액의 층의 두께는 또한 경험적으로 결정될 수 있다.

[0036] 예를 들어, 이중-피크 형광의 강도가 얻어지는 고-속 혈관조형 영상을 획득하는데 사용된 동일한 광학 장치 및 형광 여기 조명을 사용하여, 형광 영상은, 예를 들어, 도 4에 예시된 바와 같이, 0.025 mg/ml ICG/혈액 또는 ICG/에탄올 용액으로 충전된 정교하게 테이퍼된 모세관으로 얻을 수 있다. 이러한 영상 (도 4의 A)으로부터, 모세 직경,  $\Delta L$ , 및 형광 강도 사이의 선형 관계의 그래프는 발생될 수 있다 (도 4의 B).

[0037] 절대 값은 방정식  $F = (A \times \Delta L) / \Delta t$ 에서 모든 항목에 대해 알려져 있어, ml/sec으로 환산하여 면적 A의 아래에 놓인 피부 조직의 부피를 통한 절대 혈액 흐름을 해결하는 것이 가능하도록 한다. 그러므로, 이러한 구현 예는, 임상에게 이미 이용할 수 없는 부피가 있는 조직 (예를 들어, 피부 혈액 흐름)에서 혈액 흐름의 절대 정량화를 위한 방법을 예시한다.

[0038] 또 다른 구현 예에 있어서, 0.40 ml의 50 mg/ml 수성 ICG 염료의 빠른 주맥 주사 및 즉각적인, 빠른 5.0-ml 등장 식염수 플러시 (saline flush) 후, 사람 팔뚝 반대쪽 안쪽 피부의 250 mm<sup>2</sup> 면적의 고-공간 해상도 (high-spatial resolution) 혈관조형 영상은 23/sec의 속도로 얻어진다. 상기 혈관조형 시퀀스에서 개별적 영상은 프레임-투-프레임 암 움직임 (frame-to-frame arm movement)을 제거하기 위해 재-동록되고, 각각의 이들 영상으로부터, 조직 면적에 대한 평균 형광 강도는 각 영상에 대해 계산된다.

[0039] 이들 데이터는 그 다음 시간-가변성 평균 형광 강도의 플롯을 발생시키는데 사용되고, (대략 영상 수 100으로 조정된) 이의 일부는 도 5에 나타난다.

[0040] 고-주파수 "PPG" 진동은 250 mm<sup>2</sup> 표면적 아래, 피부 조직의 부피 내에 함유된 총 혈관 부피의 염료 충전과 관련된 형광 강도 곡선의 저-주파수 구성분에 의해 명백하게 가시적이다. 도 6에 예시된 바와 같이, 영상 수 100에 집중된 세 개의 PPG 진동 (및 제 4의 일부 (fraction))은 도 4의 B로부터 모세 직경 대 형광 데이터의 그래프 옆에 병치된다. 두 그래프는 도의 우측에 나타낸 동일한 형광 강도 스케일 상에 있다.

[0041] PPG 형광-강도 진동의 최소 (파선) 및 최대 (파선)에 의해 정의된 엔빌로프 (envelope)는 형광-강도 대 모세-직경 그래프로 투사되고, 그 다음 그래프의 가로좌표 (abscissa)로 투사된다. 후자 투사의 폭은 혈액-부피 층 증가의 두께,  $\Delta L = 0.001$  mm를 나타낸다.

[0042] 이 예에 있어서 세 개 형광-강도 진동에 대한 평균 펄스 듀티-사이클 (PDC)는 40%가 되도록 결정되고, 하나의 펄스의 평균 지속기간은  $\Delta t = 0.680$  sec가 되도록 결정된다.

[0043]  $F = (A)(\Delta L)(P_{DC}) / \Delta t$  이기 때문에,

[0044]  $= (250 \text{ mm}^2)(0.001 \text{ mm})(0.40)/(0.680)$

[0045]  $= 0.147 \text{ mm}^3/\text{sec}$ , 또는  $0.147 \text{ ml}/\text{sec}$

[0046] 신뢰할 수 있는 측정 방법론의 비가동률 (unavailability)에 기인하여 팔 피부에서 절대 혈액 흐름에 관한 종래의 기술에서 이용가능한 정보는 거의 나타나지 않는다. 매우 대략의 근사치는 다음의 평균 혈액 순환 및 해부학적 값들을 사용하여 만들어질 수 있다:

[0047] 총 심박출량 =  $5 \text{ L}/\text{min} = 83.33 \text{ ml}/\text{sec}$

[0048] 피부로의 심박출량의 일부 =  $20\%$  또는  $16.67 \text{ ml}/\text{sec}$

[0049] 피부 면적 ( $\text{m}^2$ ) =  $\{[\text{높이 (in)} \times \text{중량 (lbs)}]/3131\}^{1/2}$

[0050]  $= \{[68 \times 154]/3131\}^{1/2} = 1.83 \text{ m}^2$

[0051]  $= 1.83 \times 10^6 \text{ mm}^2$

[0052] 그러므로,  $1 \text{ mm}^2$ 의 피부로의 총 혈액 흐름 =  $(16.67 \text{ ml}/\text{sec})/(1.83 \times 10^6)$

[0053]  $= 9.11 \times 10^{-6} \text{ ml}/\text{sec}$

[0054] 따라서,  $250 \text{ mm}^2$ 의 피부로의 혈액 흐름 =  $250 \times 9.11 \times 10^{-6} \text{ ml}/\text{sec}$

[0055]  $= 0.0023 \text{ ml}/\text{sec}$

[0056]  $250 \text{ mm}^2$ 의 피부로 혈액 흐름의 이러한 후자 근사치는 상기 실시 예에서 예시된 바와 같이 본 발명의 형광-매개된 PPG 방법 및 시스템을 사용하여 유도된  $0.147 \text{ ml}/\text{sec}$ 보다 약 60배 작다. 그러나, 결과에서 이러한 불일치는 혈액 흐름이 순환/생리학적인 근사치에 기초한 계산으로 전신 피부 면적 전반적으로 균일하게 분포되고, FM-PPG 예에서 모세-직경/형광-강도 데이터가 혈액보다 에탄올에서 ICG를 사용하여 작성되며, 눈에 의한 모세-직경 측정이 디지털 수단에 의한 것보다 다소 중첩된 스케일로 만들어지는 내재적 가정의 관점으로 설명될 수 있다.

[0057] 다양한 구현 예에 있어서, 전술된 보정 방법에서 요구된 바와 같이,  $38\text{-}\mu\text{M}$ 을 초과하는 순환 피크 염료 농도를 달성하기 위해 식염수 플러시를 수반하는, 작은-부피, 고-농도 염료 한 회분 (예를 들어, ICG)의 빠른 정맥 주사는 선택된 임상적 실행을 위해 적절할 수 있다.

[0058] 본 발명의 또 다른 구현 예에 있어서, 선택적인 보정 방법은 일상적인 임상적 사용에서 접하는 피크 염료 (예를 들어, ICG) 농도의 범위를 수용하도록 개발된다.

[0059] 예를 들어, 통상적인 ICG 투여는  $5 \text{ ml}$  식염수 플러시를 수반하는, 약  $3 \text{ ml}$ 의  $25 \text{ mg}/\text{ml}$  수성 용액을 주사로 이루어진다. 약 400 내지 600 배의 주사된 염료 한 회분 희석은 다양한 관심의 부위에 혈관내 이동 동안 발생하여, 대략  $5.4\text{-}$  내지  $8\text{-}\mu\text{M}$ 의 피크 염료 농도의 범위를 결과한다. 피크 염료 농도의 이러한 가변성을 수용하기 위하여, 부가적인 형광 파장 데이터는 혈관조형 영상과 동시에 획득되고; 이들 데이터들은 각 영상이 획득되는 시간에 혈관내 염료 농도를 결정하기 위한 이중-파장 비율계량 분석을 위해 사용된다.

[0060] 이전 구현 예에 기재된 보정 방법이 ICG 형광 혈관조형 시퀀스를 제외한 다른 데이터를 요구하지 않는 장점을 갖지만, 이러한 구현 예에 기재된 선택적인 보정 방법은 일반적 주사 기술로부터 편차가 요구되지 않는 점에서, 사용자에게 전적으로 명백한 장점을 갖는다. 그러나, 이러한 구현 예와 관련하여, 기록 장치의 영상 광학은 영상 형성을 위해 사용된 것보다 더 긴 두 개의 근 IR 파장의 연속적 동시 측정을 허용하도록 변형된다.

[0061] 전술된 구현 예에서 기재된 보정 방법과 마찬가지로, 선택적인 보정방법에서, 두께 증가는, 도 2의 C에 묘사된, 혈액량 층, L의  $\Delta L$ 이 결정된다. 다시, 이것을 하기 위한 데이터는 단일 압력 펄스 진동 동안 직사각형 조직 부피에서 총 ICG-염료 표지된 혈액량의 조도에 의해 발생된 형광에 넣는다. 직사각형 조직 부피의 표면적, A가  $805\text{-nm}$  파장 레이저 광으로 조사되는 경우, 발생된 총 형광, F는 여기 광 강도의 함수, 즉,  $805\text{-nm}$ 에서 ICG 흡수 계수,  $\epsilon$ , ICG 몰 농도, C, ICG 양자 효율 (quantum efficiency),  $\Phi$ , 및 총 ICG-표지된 혈액 층 두께, L이다. 즉 하기 수학 식 2이다:

[0062] [수학 식 2]

- [0063]  $F = f(I_e, e, C, \Phi, L)$
- [0064] 그러나, 흡수의 비어-램버트 법칙 (Beer-Lambert law)에 의해 기재된 바와 같이, 여기 광이 ICG 표지된 혈액량을 통해 이동함에 따라 흡수되는 것을 고려하여, 발광된 형광 광의 강도,  $I_f$ ,는 하기 수학 식 3과 같다:
- [0065] [수학 식 3]
- [0066]  $I_f = I_e \Phi (I - e^{-\epsilon C L})$
- [0067] 수학 식 3을 풀기 위해서  $L$ 은 하기 수학 식 4와 같다:
- [0068] [수학 식 4]
- [0069]  $L = \ln [I_e \Phi / (I_e \Phi - I_f)] (\epsilon C)^{-1}$
- [0070] 여기서 모든 파라미터에 대한 값은 즉각적인 (instantaneous) ICG 물 농도,  $C$ 를 제외하고는 알려져 있다.
- [0071] 그러나, 다양한 구현 예에 있어서, 염료 (예를 들어, ICG) 물 농도는 염료 (예를 들어, ICG) 형광 영상을 형성하는데 사용된 파장의 대역보다 위인 두 개의 적절한 근-IR 파장의 비율계량 분석에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 도 7은, 아래에서, 염료 물 농도의 함수로서 혈액에서 ICG에 의해 방출된 850- 및 900-nm 파장에 집중된 파장의 대역의 강도의 비의 관계를 나타낸다. (물 농도의 범위가 성형 및 복원 외과 전문의들에 의해 사용된 현행 종래의 ICG 염료 투여 요법 (regimen)에 의해 생산된 5.4- 내지 8- $\mu$ M 범위를, 큰 차이로, 포괄하는 점에 주목. 그러나, 이러한 관계에 대한 범위는 더 높고 및 더 낮은 물 농도 모두에 대해 훨씬 더 멀리 확장한다).
- [0072] 다양한 구현 예에 있어서, 비율계량 염료 (예를 들어, ICG) 물 농도 결정의 실행은 형광 영상 경로로 광학 및 전자 부품의 부가를 포함한다. 구현 예에 따르면, 이들 부품의 삽입의 예로는, Novadaq Technologies Inc. of Mississauga, Canada에 의한 SPY® 영상 시스템의 상향하에서 도 8에 개략적으로 나타낸다. 도 8은 조직 (40)으로부터 형광 광의 형광 영상을 위한 CCD 비디오 카메라 (12) 및 대물 렌즈 (14)를 포함하는 영상 시스템 (10)을 개략적으로 나타낸다. 도 8에 구현 예에서 나타낸 바와 같이, 형광 영상 경로로 광학 및 전자 부품 (예를 들어, 부품 (16))의 부가는 SPY® 대물 렌즈 (14) 및 CCD 비디오 카메라 (12) 사이에 이러한 부품을 배치시키는 단계를 포함할 수 있다. 도 8에서 나타낸 두 개의 Si 광-검출기 (20 및 22)로부터 신호 출력은 도 7에서의 관계를 활용하여 실시간 분석되고, 각 혈관조형 영상을 위해 결정된 최종 물 농도는 이의 TIFF 헤더 (header)에 넣고, 뒤이어 순환 혈액에서 즉각적인 염료 물 농도를 결정하기 위해 요구된 대로 추출된다. 도 8에 구현 예는 하드웨어 실행의 예와 관련하여 하기에 좀더 상세하게 논의된다.
- [0073] 다양한 구현 예에 있어서, 압력 펄스 동안 발생한, 혈액량 층의 두께에서 증가,  $\Delta L$ 은 압력 펄스가 압력 펄스의 피크,  $L_p$ , 및 펄스 최소,  $L_m$ 에서 층 두께를 결정하기 위해 수학 식 4를 사용하여 혈관조형 시퀀스 동안 아무 때나 결정될 수 있고, 그 다음 둘 사이에 차이를 하기 수학 식 5와 같이 계산한다:
- [0074] [수학 식 5]
- [0075]  $\Delta L = L_p - L_m = \ln [(I_e \Phi - I_m) / (I_e \Phi - I_p)] (\epsilon C)^{-1}$
- [0076] 여기서  $I_p$  및  $I_m$ 은 펄스 피크 최소에서 측정된 개별의 형광 강도이고,
- [0077] 여기서,  $L = \ln [I_e \Phi / (I_e \Phi - I_f)] (\epsilon C)^{-1}$ 이며, 여기서,
- [0078]  $L =$  모든 혈관 아래 면적  $A$ 에서 혈액 층의 총 두께 (cm)
- [0079]  $I_e =$  여기 광 강도 ( $Wcm^{-2}$ )
- [0080]  $I_f =$  발광된 형광 광의 강도 ( $Wcm^{-2}$ )
- [0081]  $\epsilon =$  ICG 물 흡수 계수 ( $M^{-1}cm^{-1}$ )
- [0082]  $\Phi =$  ICG 양자 효율 (0.13)

- [0083] A = 관심의 면적 (cm<sup>2</sup>)
- [0084] C = ICG 물 농도 (M)
- [0085] L은 혈액 흐름 펄스 (L<sub>S</sub>)의 심장 수축 (systolic) 피크 및 이의 심장 확장 (diastolic) 최소 (L<sub>D</sub>)에서 결정되고, 그 다음 관심의 조직 면적 (A)을 통한 흐름은 다음과 같이 계산된다:
- [0086] 흐름 = A (L<sub>S</sub> - L<sub>D</sub>) / 시간, 및 여기서, 시간은 혈액 흐름 펄스의 지속기간으로 간주된다.
- [0087] 다양한 구현 예에 있어서, 형광 강도 I<sub>p</sub> 및 I<sub>m</sub>은, 예를 들어, 도 6에 묘사된 대표 알고리즘에 사용된 동일한 데이터를 사용하여 결정될 수 있고, 여기서 혈관 조영 영상으로부터 압력 펄스에 대해 엔빌로프를 형성하는 평균 강도 수준은 과선된 수평선에 의해 나타낸다. 그러나, 본 실시 예에 있어서, 이들 두 개의 수평선은 그래프의 우-측 상에 상대적 형광 강도 스케일로 투사되고; 하나의 선은 1100에서 세로좌표를 가로막고, 다른 선은 1035에서 가로막는다.
- [0088] 다양한 구현 예에 있어서, I<sub>p</sub> 및 I<sub>m</sub>에 대한 이들 상대적 강도 수준을 실제 광 강도 수준 (μW/cm<sup>2</sup>)으로 전환하기 위하여, 상기 CCD 비디오 카메라는 조절된 염료 (예를 들어, ICG) 형광 강도 입력 수준에 대하여 카메라의 회색 스케일 출력을 보정하여 광 미터로서 사용된다.
- [0089] 보정 방법은 총 형광 (I<sub>f</sub>, 수학 식 3)이 구 모양으로 방출되고, 오직 이의 일부가, 영상 시스템의 조리개 직경 및 발광 원과 조리개의 거리에 의존하는, 카메라에 의해 검출되는 것을 고려하도록 고안되었다. 상기 카메라의 출력은 대략 50-로부터 2500- μW까지 선형인 것으로 확인되고, 이로써 I<sub>f</sub> (μW)는 하기 수학 식 6과 같다:
- [0090] [수학 식 6]
- [0091] I<sub>f</sub> (μW) = (평균 강도 - 100) / 413.012,
- [0092] 그러므로, I<sub>p</sub> = 2.905 μW 및 I<sub>m</sub> = 2.749 μW이다.
- [0093] 도 6에 묘사된 혈관조영 데이터의 획득 동안; I<sub>e</sub> = 4.0 W, 수학 식 5는: ΔL = ln [(4000 x 10<sup>-3</sup> x 0.13) - (2.749 x 10<sup>-3</sup>)] / [(4000 x 10<sup>-3</sup> x 0.13) - (2.905 x 10<sup>-3</sup>)](εC)<sup>-1</sup> = 0.0005 mm가 되는 점에 주목.
- [0094] 상기 수학 식 1에 ΔL에 대한 이 값을 대입하면:
- [0095] F = (A) (ΔL) (P<sub>DC</sub>) / Δt
- [0096] = (250 mm<sup>2</sup>) (0.0005 mm) (0.40) / (0.680)
- [0097] = 0.0735 mm<sup>3</sup>/sec, 또는 0.0735 ml/sec이다.
- [0098] 이 혈액 흐름 (0.0735 ml/sec)은 제1 실시 예에 사용된 이전 방법 (0.147 ml/sec)에 의해 계산된 것의 절반이어서, 전-신 생리학적 파라미터에 기초한 0.0023 ml/sec의 근사치에 더 가깝게 만든다.
- [0099] 피부 혈액 흐름에서 가변성은 주변 온도에서 변화뿐만 아니라, 다수의 생리학적 파라미터에서의 변화에 의해 유도된다. 이러한 가변성의 정도를 결정하기 위하여, 실험은 수행되고, 여기서 상기 실시 예에서와 같이 사람 팔뚝 피부의 동일한 250 mm<sup>2</sup> 면적의 두 개의 ICG 혈관조영은 대측성 좁은 맥 (contralateral cubicle vein)으로 각각 0.33 ml의 25 mg/ml ICG의 빠른 주사 및 5 ml 식염수 플러시 후에, 32 분 동안 기록된다. 제1 혈관조영은 약 70 °F의 주변 실온에서 기록되고, 제2 혈관조영은 6인치 거리에서 24 W 석영 할로젠 램프로부터의 방사선에 약 1분 동안 노출 후 바로 기록되며; 온도 감각 (temperature sensation)은 수 인치의 거리에서 입을 통한 숨의 빠른 배기 (exhalation)에 의해 생산된 것과 유사하다.
- [0100] 도 9는 두 실험 (상부 열)으로부터 시간-가변성 평균 강도 그래프의 일부분과 함께 시간 그래프에 대한 이들의 개별 제1-파생물 (derivative) (하부 열)을 나타낸다. 이 실험이 FM-PPG 알고리즘의 보정 부분의 실행 이전에 수행되기 때문에, 도면의 하부에 계산된 피부 면적 혈액 흐름은, ml/sec의 절대 조건이라기보다, 오직 상대 조건에 있다. 그럼에도 불구하고, 혈액 흐름이, 주변 실온과 비교하여, 다소 증가된 온도에서 약 1.4배 더 크다는 사실은, 만약 시간의 데이터 수집에서 온도 및 다른 생리학적 파라미터가 고려되지 않는다면, FM-PPG 혈액 흐름 측정에서 예상될 수 있는 정상 피부 조직에서 가변성의 변화의 지표이다.

- [0101] 본 발명의 FM-PPG 방법 및 시스템의 구현 예에 따르면, ICG는, 관심의 조직 부위를 통해 이동하는 동안, 피크 염료 농도가 0.025 mg/ml (최대 형광 강도, 및 여기서 농도 형광 퀀칭은 하기에 좀더 상세하게 기재된다)를 초과하는, 충분히 높은 농도의 ICG 염료 한 회분을 주사하여 대상에게 정맥주사로 투여된다. 이들 조건 하에서, 염료 이동을 기록하는 혈관조영 영상의 서브-시퀀스는 영상 회색-스케일 (gray-scale) 강도의 함수로서 전체 시퀀스에서 각 영상에 대한 ICG 몰 농도를 결정하는데 필요한 정보를 함유하여, 염료 여기 수준이 혈관조영 기록 내내 일정한 것으로 추정하며, 형광-강도 대 CCD 카메라 회색-스케일-출력은 알려져 있다.
- [0102] 다양한 구현 예에 있어서, ICG 염료 형광 퀀칭을 대응하기 위해, 순환 혈액에서 ICG 몰 농도의 결정을 위한 실시간, 두-과장 비율계량 방법은 개발된다. 이것은 특별한 제법도 없고, 염료 주사에 대한 의사의 통상적 요법으로부터의 편차도 없으며, 필요한 관심의 조직을 통한 염료의 이동-상 (transit-phase)은 기록되지 않지만, 형광 여기 강도는 영상 획득 동안 공지의 일정 수준에서 유지되며, 혈관조형은 순환 혈액이 염료-포화 (dye-saturated)이거나 또는 충분한 맥관 착색 (vascular staining)이 일어난 경우 실행되지 않는다. 다양한 구현 예에 있어서, 과장-비율계량 방법의 실행은, 획득된 각 영상으로 동시에, 근-IR-과장의 두 대역의 강도를 결정하고, 상응하는 영상 헤더에서 이들 데이터를 넣기 위한, 소프트웨어 및 하드웨어 및 부가적인 광학 (optics)을 포함한다. 혈관조영 획득이 영향을 미치는 한, 이들 부가물 및 사건들은 이들에 혼입되는 어떤 장치의 작동자에게 전적으로 명백하다. 다양한 구현 예에 있어서, 부가적인 보정 단계들은 일상적인 임상 사용에 도입하기 전에 각 장치에서 수행된다.
- [0103] 하드웨어 실행의 실시 예
- [0104] 구현 예에 따르면, ICG 몰 농도의 비율계량 방법의 평가를 위하여, 예를 들어, 도 8에 나타낸 영상 시스템 (10)과 같은, 원형 FM-PPG 시스템의 ICG 형광 영상 광학 경로는, 도 8에서 예시된 바와 같이, 사물렌즈 (14) 및 CCD 비디오 카메라 (12) 사이에 빔-분리기 (16)의 삽입에 의해 변형된다. 이러한 구현 예에 있어서, 상기 빔 분리기 (16)는 영상 캡처를 위해 사용된 ICG 형광 과장 (30)의 대역을 투과하고 (밴드패스 필터 (bandpass filter, 23)에 의해 여과될 수 있는, 대략 815 내지 845 nm 과장), 모든 더 높은 과장 (32) (예를 들어, 과장 > 845 nm)을, 광이 대략 875 nm 미만인 과장 (과장(들) (34)) 및 대략 875 nm를 초과하는 과장 (과장(들) (36))으로 제2 빔-분리기 (18)에 의해 더욱 분할됨에 따라, (릴레이 렌즈 (17)를 포함할 수 있는) 병렬 경로로 전환한다. 이들 후자의 말단에서, 경로들은 근-IR 민감성 Si 검출기 (예를 들어, Si 검출기 (20 및 22)) (Thorlabs, model PDA36A Si Switchable Gain Detector)에 놓인다. 처음에, 각각 850 (필터 (24)) 및 900 nm (필터 (26))에 집중된 협 대역-폭 필터는 비율계량 방법이 기초되는 두 과장을 결정하기 위해 사용된 (Washington University, St. Louis에서 Berezen Lab에 의해 계약하여 생산된) 2-, 4-, 8-, 16-, 및 32- $\mu$ M ICG를 함유하는 전혈액 샘플로부터 전-면-여기 형광 방출 스펙트럼 데이터에 근사치를 내기 위해 각각의 검출기 (20 및 22)의 전방에 삽입된다. 후속 분석은, 또 다른 변형에서, 실질적으로 동일한 비율계량 식별이 훨씬 더 넓은 대역폭을 사용하여 만들 수 있음을 나타낸다. 따라서, 이 구현 예에 있어서, 협 대역-폭 필터는 제거되고, 이에 의해 Si 검출기에 영향을 주는 광 강도를 증가시킨다. 각각의 Si 검출기에 영향을 주는 광이 각 혈관조영 영상에 기록된 전체 시계로부터 유발하는 것을 예상하는 것도 주목할 만하다. 그러나, 분석 장치 활용 제한에 기인하여, 후-제2-빔-분리기 광 경로 및 Si 검출기 상에 광의 집중은 엄격히 입증되지 않는다.
- [0105] 소프트웨어 실행의 예
- [0106] 데이터 획득
- [0107] 이 구현 예에 있어서, 각 Si-검출 증폭기 (detector amplifiers) 출력은 고-해상도 디지털화 장치 (Advantech 10M, 12bit, 4ch Simultaneous Analog Input Card, Model PCI-1714UL-BE)의 두 개의 입력 채널 중 하나에 연결되고, 상기 CCD 비디오 카메라로부터 트리거 출력 (trigger output)은 상기 디지털화 장치의 트리거 입력 채널에 연결된다. 각 채널로부터 디지털화된 출력은 기록된 각 혈관조영 영상의 헤더로  $\lambda$ -링크 소프트웨어에 의해 삽입된다. 상기 디지털화 장치는 연속적으로 초당 총 500k 데이터 샘플을 획득하고, 각각의 세 개의 입력 채널로부터 동일한 위치에서 주기적으로 얻는다.  $\lambda$ -링크가 (805-nm 레이저로부터 여기 광의 5-msec 펄스의 시작을 의미하는) 카메라 트리거 채널에서 1.5-volt 임계값 이상으로 상승을 검출하는 경우, 다른 두 개 채널로부터 데이터 샘플 카운팅 및 기록은 시작된다. 850-nm로부터 처음 300 샘플은 (레이저 펄스 상승 시간과 연관된 인위 결과를 피하기 위해) 배제되고, 다음 600 샘플은 기록되며 (최적 양이 될 것으로 경험적으로 결정), 나머지는 배제되고; 동일한 획득 알고리즘은 그 다음 900-nm 채널로부터 샘플에 적용된다. 트리거 채널 전압이 레이저 펄스의 말단에 1.5 volt 이하로 떨어지는 경우, 프로그램은 임계값 수준 이상으로 상승하는 다음 전압을 찾는 것이 기본적이다.

- [0108] 데이터 분석
- [0109]  $\lambda$ -링크 소프트웨어의 분석 부분은, Phi-운동 방식 (Phi-motion mode)에서, 각 기록된 혈관 조영 영상에 동시에 넣어진 광의 850- 및 900-nm 파장 대역으로부터 강도 데이터가 추출되는 것으로 구성되어, Si 검출 증폭기로부터 디지털 전압의 두 스트림을 생산한다. 각 스트림은 여기 레이저 펄스당 (즉, 영상당) 600 데이터 샘플을 함유하고, 그래서, 총 1,200 데이터 샘플은 각 영상 헤더에 저장된다.
- [0110] 850-nm 채널로부터 전압 샘플의 평균 수준은 900-nm 채널로부터 샘플의 평균 수준으로 나뉘져, 절대 조직 관류를 계산하는데 사용된 ICG의  $\mu\text{M}$ - 농도 (C)로 (보정 곡선을 통해) 변형된 비를 생산한다.
- [0111] 2-파장 비 뿐만 아니라, 두 개 채널로부터 디지털화된 출력은, 6 소수점 자리까지 기록된다. 40 연속 영상 (대략 1.7 초에 기록된 수)으로부터 롤링 평균 비가 3 소수점자리로 안정하게 경험적으로 결정되고, 따라서 마지막 세 자리는 계산 및 보고의 목적을 위해 생략된다.
- [0112] 2-파장 비 대 C 보정 곡선의 구성
- [0113] 대표 원형 시스템과 연관된 보정 곡선은 이의 전기적 및 광학 부품 (예를 들어, 렌즈 조리개, 여기 레이저 파워, Si-검출기 증폭, 등) 모두에 연관된 파라미터의 특정 조합으로 특별하고, 이의 대부분은 경험적인 실험으로 최적화된다. 상기 곡선의 필수적 특징은 단조롭고, 혈액에서 ICG 농도를 결정하기 위해 적절한 해상도를 허용하도록 충분히 가파른 기울기 (양 또는 음)를 가지며, 장치 파라미터의 제공된 고정 세트에 대해 재생산가능하고, 샘플 두께에 필수적으로 독립적인 점이다.
- [0114] 실험 설정 및 데이터 획득
- [0115] 상기 원형 시스템에 대한 보정 곡선의 구성은 신선하게 재구성된 ICG 염료의 2-, 4-, 8-, 12, 및 16- $\mu\text{M}$  농도를 함유하는 신선하게 획득된, 항응고화 (anticoagulated) 전 사람 혈액 (whole human blood)의 샘플에 기초한다. 3 밀리미터의 각 샘플은 상부-개방 페트리 접시에 놓이며, 장치의 시계를 완벽하게 채우는 위해 충분히 큰 표면적으로 1.764-mm 두께 층의 혈액을 생산한다.
- [0116] 차례로, 각각의 다섯 샘플은 영상 시스템 (10)의 대물 렌즈 (14) 하에 위치되고, 대략 5-sec 길이로 혈관조형 영상의 시퀀스는 기록되며; 이러한 절차는 혈장에 부유된 적혈구의 침강 (settling)을 피하기 위해 가능한 한 빠르게, 두 번 더 반복한다. 2분의 1 밀리미터의 혈액은 각 샘플로부터 제거되어, 0.294 mm까지 혈액 층 두께를 감소시키며, 다시 3 세트의 5 샘플의 혈관조형 시퀀스는 기록된다. 그 다음 추가적인 0.5 ml의 혈액은 각 샘플로부터 제거되고, 최종 세 개의 세트의 혈관조형 시퀀스는 기록된다. 따라서, 9 세트의 비율계량 데이터는, 세 개의 다른 샘플 두께로부터의 3 세트씩, 다섯 ICG/혈액 샘플 모두로부터 획득된다.
- [0117] 비교의 목적을 위하여, 비율계량 데이터의 동일한 시퀀스는 ICG/혈액 샘플과 동일한 ICG 농도의 범위를 갖는 에탄올에서 ICG의 다섯 샘플로부터 획득된다. 그러나, 이 경우에 있어서, 세 개 대신 오직 하나의 혈관조형 시퀀스는 샘플 층 두께당 다섯 샘플 모두로부터 기록된다. ICG/혈액 프로토콜로부터의 이러한 편차는, 특히 더 높은 ICG 농도 샘플로, 여기 광 에너지의 흡수가 에탄올 증발을 가속화시키는 사실에 의해 부득이하게 되고, 이에 의해 샘플 농도를 증가시킬 뿐만 아니라, 샘플 층 두께를 감소시킨다.
- [0118] 도 10 및 11은 에탄올 및 사람 혈액에서 각각 ICG에 대해 구성된 2-파장 비율계량 보정 곡선에 대한 샘플 두께의 효과를 예시한다. 비록 전혈, 혈청 및 에탄올에서 ICG의 용액이 ICG 농도의 함수로서 방출된 형광 강도에 관하여 유사한 거동을 나타낼지라도, 도 10 및 11에서 곡선은, 2-파장 비율계량 보정 곡선을 구성하는데 사용된 방출된 파장의 대역의 강도들 사이에 관하여, 특히 더 낮은 염료 농도에서의, 혈액 및 에탄올 용액 사이에서 상당히 다른 거동을 예시한다. ICG 및 두 용질 사이에 화학 작용 (예를 들어, 해리 및 상호반응)에서 차이점과 연관된 Beer-Lambert 법칙의 와해는 이러한 차이를 설명할 수 있다. 혈액에서 ICG에 대해 경험적으로 유도된 보정 곡선은, 본 명세서에서 전술된 바와 같은, 현재 이해된 필요한 특징을 충족시킨다.
- [0119] 조직 관류를 계산하는 소프트웨어-내장 알고리즘과 관련하여 보정 곡선을 사용하기 위해, 비록 이 실시 예에 있어서, 다섯 개 데이터 점으로부터 구성되었더라도, 이것은 디지털 포맷에서 접근가능하여야 하고, 연속적 함수로서 소프트웨어에 나타나야 한다. 이것은 모든 다섯 점을 통과하는 매끄러운 곡선을 묘사하는 방정식을 확인하여 달성될 수 있다. 유감스럽게도, 확인된 선형 또는 2-차 다항식은 만족스럽게 적합한 것이 없었고, 그래서 모든 다섯 점을 통하여 통과한 그래프는 매뉴얼적으로 (manually) 구성되며; 이로부터, 12 개의 추가적인 데이터 점은 유도되어, 도 12에서 곡선을 결과한다. 소프트웨어 프로그램은 총 17 데이터 점들 사이에 덧붙인다. 상기 보정 곡선은 도 12에 나타낸다. 도 13에서 나타낸 바와 같이, 곡선을 따른 비율 데이터의 평균 가변성은

평균이 +/- 0.014이다.

- [0120] Berezin Lab으로부터의 것과 현 보정 데이터의 비교
- [0121] 비율계량 보정 곡선의 구성을 위한 최적 파장을 결정하기 위해 사용된 ICG의 다양한 농도를 함유하는 사람 혈액 으로부터의 형광 데이터의 발생은 Berezin Laboratory at Washington University School of Medicine (St. Louis, MO)에 의뢰되었다. Berezin Lab은, 2-파장 비율계량 방법 및 시스템이 기초를 둔, 원래 데이터를 확인 하는데 요구된 고-해상도 데이터를 생산하기 위해 근-IR 영역으로 충분히 먼 스펙트럼 범위를 갖는 이용가능한 분광형광계 (spectrofluorometer)를 갖는 몇 개의 설비 중 하나이다.
- [0122] Berezin 장치가 효과적으로 단일 광학 경로 (채널)를 갖고 모든 파장 데이터를 획득하기 위해 동일한 검출기를 사용하는 반면, 원형 시스템은 두 분리 경로를 갖고 두 개의 다른 신호 증폭기 등, 뿐만 아니라, 두 개의 다른 검출기를 사용하기 때문에, 두 보정 곡선은 노이즈 수준 및 해상도에 관하여 다를 것으로 예상된다. 장치 모두는, 만약 곡선이 다르게 보일지라도, 본 명세서에서 전술된 바와 같이, 최소 필수 특징을 충족하는 보정 곡선을 생산할 수 있다.
- [0123] (데이터 점들로 가로지르는) 도 12에서 곡선 및 도 13에서 곡선의 비교가 입증하는 바와 같이, 이들은 꽤 다르며: 비록 모두가 단조롭고, 그들의 기울기가 반대일지라도, Berezin 데이터의 비율 범위는 약 5 배 더 크다. 그러나 이들 중 어느 것도 원형 시스템으로부터 곡선이 틀렸음을 입증하지 못한다. 사실상, Berezin 곡선의 비율 스케일을 (신호 강도 및 증폭에 연관된 차이를 상쇄하는) 원형 시스템의 비율 스케일로 정상화하고, Berezin 데이터 비율 스케일의 방향을 변화시켜 (곡선을 져혀서, 이에 의해 이의 기울기를 변화시켜), (데이터 점들로 원을 갖게) 도 14에서 최종 곡선은, 도 14에서 예시된 바와 같이, 원형 시스템의 것과 가깝게 일치시킨다.
- [0124] Berezin 데이터 비율 스케일을 정상화하는데 사용된 변형 함수 (transform function)는 다음과 같다:
- [0125]  $R_1 = (R_0 / 5.796) + 1.858$
- [0126] 여기서:
- [0127]  $R_0$ 는 Berezin 비율 스케일에 대한 원래 데이터 점 값이고;
- [0128]  $R_1$ 은 원형 장치 비율 스케일에 대한 플랫폼 변형 점 값이며;
- [0129] 5.796은 Berezin 비율 데이터 범위 (2- 및 16- $\mu\text{M}$  비 값 사이의 차이)와 원형 장치에 대한 비율 데이터 범위이고; 및
- [0130] 1.858은 16- $\mu\text{M}$  Berezin 샘플에 대한  $R_1$ 이 (Berezin 곡선이 져혀진 이후에) 원형 장치의 스케일로 이동되어 이를 원형 장치의 2- $\mu\text{M}$  데이터 점의 위치에 상응하도록 만들기 위한 양이다.
- [0131] 원형 시스템 데이터에 대해 ("Power"로 표시된) 컴퓨터-발생 2-차 다항식 곡선은 잘 맞지 않고; 이것은 8- 또는 16- $\mu\text{M}$  농도 모두에 대한 확대된 "+" 데이터 점을 통해 통과된 비대칭도 (skewness)에 의해 밀출표시된다.
- [0132] 그럼에도 불구하고, Berezin 데이터에 대해 변형되고 져혀진 "Power" 곡선은, 확대된 데이터 점 데이터에 의해 그려진 바와 같이, 원형 장치의 "Power" 곡선의 평균-가변성 엔빌로프 내에 전적으로 놓인다. 이것은 Berezin 및 원형 장치 데이터 모두에 대한 점-사이 관계 (inter-point relationships)의 절대 값이 필수적으로 같다는 것을 입증한다. 그러므로, 현재 이용가능한 최선의 척도에 의해, 혈액에서 ICG 농도의 결정을 위한 상기 하드-및 소프트웨어는 사람 대상 평가를 위해 최적화되고 적당한 것으로 나타난다.
- [0133] 절대 조직 관류 알고리즘의 유효성 (Validation)
- [0134] 다양한 조직을 통해 절대 혈액 흐름 수준에 관한 공개된 데이터의 부족에 기인하여, 조직 관류 분석 프로그램의 유효성은 가장 기본적인 벤치-탑 실험들 (bench-top experiments) 이상으로 어렵다. 비교를 위해 쉽게 이용가능한 조직에 관하여 이용가능한 데이터는 없고, 지금까지는 살아있는 조직에서 원형 장치 및 알고리즘의 개념-증명은 팔뚝 안쪽으로부터 획득된 혈관조영 데이터의 분석과 연관되어 있다.
- [0135] 비교를 위한 골드 표준 (gold standard)으로서 제공될 수 있는 침습적 절차 (invasive procedures) 없이 이용가능한 조직으로부터 절대치로 만들어진 유일한 혈액 흐름 데이터는 Aim 및 Bill에 의한 붉은 털 원숭이 안구 조직으로부터 유도된다 (Exp. Eye Res. 15: 15-29, 1973). 이들 데이터는 방사선 동위원소로 표시된 미소구체 주사 (radiolabeled microsphere injection)의 잘-확립된 방법을 사용하여, 유도되고, mg/min/mm<sup>2</sup>에 관하여 만

들어진다. 이들의 데이터를  $\mu\text{L}/\text{sec}/\text{mm}^2$ 로의 전환은, 오직 혈액의 평균 밀도가  $1.06 \times 10^3 \text{ kg}/\text{m}^3$ 인 것을 알고 있는 것으로 요구하고, 다음의 관계식은 쉽게 유도된다:

[0136]

$$X (\text{mg}/\text{min}/\text{mm}^2)/63.6 = X (\mu\text{L}/\text{sec}/\text{mm}^2)$$

[0137]

구현 예에 따르면, 안구 조직으로부터 혈관조영 데이터의 획득을 위해; 안저 카메라 (fundus camera)는 사용될 수 있다. 그러나, 안저 카메라는 순환 혈액 (C)에서 ICG의 농도의 비율계량 결정을 위해 요구된 추가적인 두 개의 과장 데이터의 동시 획득을 위한 준비가 없다. 그러나, ICG 한 회분의 이동 동안,  $32.2 \mu\text{M}$ 의 농도가 도달된 경우, 결정을 위한 선택적 방식이 있고, 그 시간에 기록된 짧은 시퀀스의 영상은 FM-PPG 알고리즘에 의해 분석될 수 있고, 이의 결과는 Aim 및 Bill의 것과 비교될 수 있다.

[0138]

하나의 선택적인 방법은 농도 형광 퀀칭에 기초하고, 현상은 용액에서 ICG 염료에 의해 나타나며, 여기서 용액에 의해 방출된 형광 강도는 또 다른 농도 증가가 형광 축소를 결과하는 지점을 넘어 도달될 때까지, 염료 농도와 함께 증가한다. 혈액에서 ICG에 대하여, 최대 형광은  $0.025 \text{ mg}/\text{ml}$ 의 농도에서 일어나고; 이러한 농도 이상 또는 이하에서, 형광 축소는 상당히 급하게 일어난다. 주사된 ICG 한 회분이 혈관의 네트워크를 이동하고, 염료 농도가 증가함에 따라, ICG 형광은 또한 증가하고, 염료 농도가  $0.025 \text{ mg}/\text{ml}$ 에 도달할 때 최대 강도에 도달한다. 농도가 계속 증가함에 따라, 형광은 농도 형광 퀀칭에 기인하여 감소하여, 농도가 이의 최대에 도달할 경우 최소 강도에 도달한다. 이후, 농도는 감소하여, 이것이 다시  $0.025 \text{ mg}/\text{ml}$ 의 최대 수준에 도달할 때까지, 형광 강도를 증가시키고; 그 다음 농도가 계속 감소함에 따라, 형광은 또한 다시 감소하기 시작한다. 따라서, ICG 기저부 혈관조영의 시퀀스에 대한 영상 수 대 전체 영상 휘도의 플롯에 있어서, 발생된 퀀칭은 동일한 형광 강도의 특색 있는 이중 피크를 함유할 것이다. 이러한 퀀칭은 충분히 고농도 및 부피 무결성의 ICG 한 회분을 주사하여 안구 맥관구조에 유발될 수 있지만, 오직 염료 주사 및 바로 후에 적당한 부피의 식염수 플러시가 빠르게 만들어진 경우에만 그런 것이다.

[0139]

제2 대안은 주맥 주사된 염료 한 회분이 안구 혈관으로 이동되는 동안 겪는 미리 결정된 양의 회석에 기초한다 (Invest. Ophthalm. 12:881-895, 1973); 평균 성장한 붉은 털 원숭이에서 310 배, 및 평균 성인에서 600 배. 다시, ICG 기저부 혈관조영의 시퀀스에 대한 영상 수 대 전체 영상 휘도의 플롯은 사용될 수 있고, 혈관조영 영상의 서브셋을 결정하기 위한 단순 시간은 피크 휘도 동안 획득된다. 상기 피크 휘도는 주사된 염료 한 회분 농도의 (사람에서) ICG 농도  $1/600$  또는 (붉은 털 원숭이에서)  $1/310$  것과 연관된다.

[0140]

붉은 털 원숭이 눈으로부터의 유효 데이터

[0141]

본 실시 예에 있어서, 대상은 (시노몰구스 원숭이 (cynomolgus monkeys)와 거의 동일한) 마취된  $8.79\text{-kg}$  붉은 털 원숭이의 확장된 우측 눈이다. 3개의 혈관조영술 시퀀스는, 다음과 같이, 보고된다:

[0142]

시퀀스 1 - 빠른  $3.0 \text{ ml}$  식염수 플러시가 즉시 수반되는  $0.1 \text{ ml}$  ( $25 \text{ mg}/0.7 \text{ ml}$  ICG 용액)의 복재 (saphenous) 정맥 주사.

[0143]

시퀀스 2 - 3.0 분 후 추가적인 염료 주사가 없음.

[0144]

시퀀스 3 - 3.0 분 후, 빠른  $3.0 \text{ ml}$  식염수 플러시가 즉시 수반되는  $0.1 \text{ ml}$  ( $25 \text{ mg}/0.5 \text{ ml}$  ICG 용액)의 복재 정맥 주사.

[0145]

각 시퀀스의 분석을 위하여, 영상 휘도 (총 강도) 대 영상 수의 시간 플롯은, 도 15에 나타난 바와 같이, 제1 시퀀스에 대해 구성된다. 이 플롯으로부터, 영상 490-565의 서브시퀀스는 피크 휘도에 있는 것으로 결정된다. 검출된 이중 피크는 없기 때문에, 전술된 바와 같은, 순환 혈액에서 ICG의 농도를 결정하기 위한 제2 선택적인 방법은 사용된다. 즉, 주사된 제1 ICG 한 회분의 농도는, 눈으로 이의 이동 동안  $0.115 \text{ mg}/\text{ml}$ 의 농도로, 310 배로 희석된,  $25 \text{ mg}/0.7 \text{ ml} = 35.7 \text{ mg}/\text{ml}$ 이다. 그러므로, (영상 490-565에 상응하는) 안구 혈관에서 염료의 피크 농도는  $148 \mu\text{M}$ 이고; 이 값은 이용가능한 2-과장 비율계량 데이터를 갖는 대신에 분석 창상에 적절한 박스로 도입된다.

[0146]

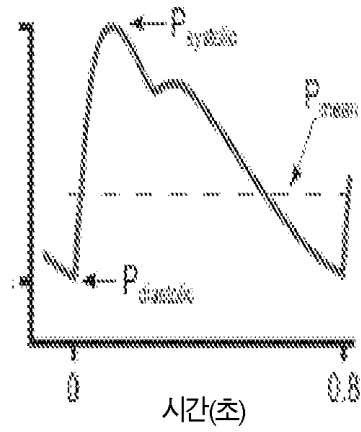
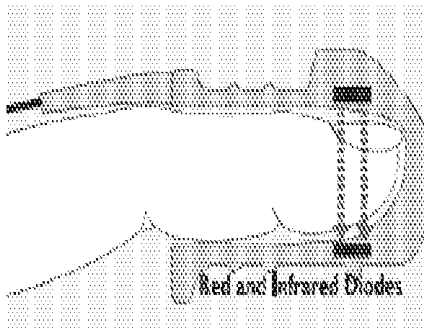
제2 플롯은 영상 490-565에 대해 발생되고, 2 개의 연속 혈액 흐름 펄스들 사이에 벨리는 선택된다 (녹색 정사각형). 동시에, 도 16에 나타난 바와 같은, 각 펄스에 대해 계산된 혈액 흐름, 뿐만 아니라 평균 흐름 ( $0.058 \mu\text{L}/\text{sec}/\text{mm}^2$ )을 나타내는 표는 또한 발생된다. 일반적으로, 동일한 절차는 제3 시퀀스에 적용되어, 플롯 및 표를 산출하고, 여기서 플롯은 도 17에 나타난 제2 혈관조영 시퀀스를 따른다. 이 플롯으로부터, 영상 300-381의 서브셋은 선택되고, 상응 ICG 염료 농도 (C)는, 제1 시퀀스에서 피크 휘도의 강도 ( $148 \mu\text{M}$  농도에 상응하는,  $0.0595$ )와 비교하여, 이 서브셋에서 펄스의 강도 ( $0.0204$ )에 기초하여 계산된다. 따라서,  $148 \mu\text{M}/0.0595 =$

C/0.0204, 그래서 C = 50.7  $\mu\text{M}$ 이다.

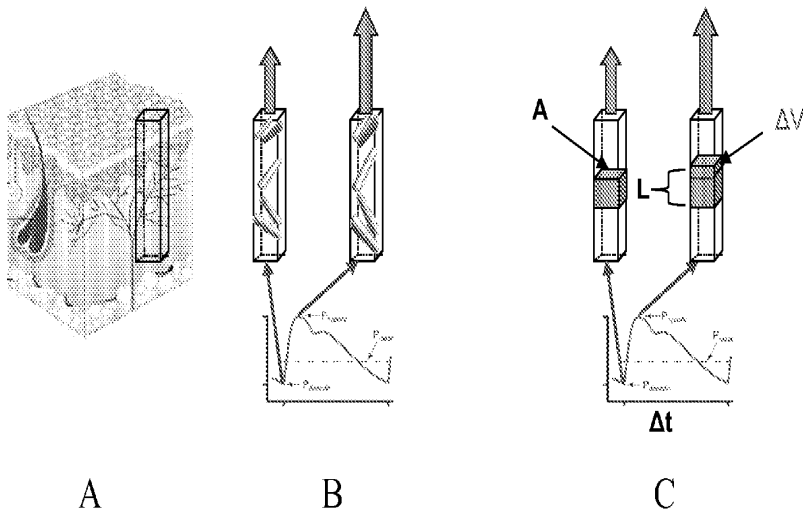
- [0147] 제2 플롯은 영상 300-381에 대해 발생되고, 5 개의 연속 혈액 흐름 펄스들 사이에 벨리는 선택된다 (정사각형). 동시에, 도 18에 나타난 바와 같이, 각 펄스에 대해 계산된 혈액 흐름, 뿐만 아니라 평균 흐름 (0.055  $\mu\text{L}/\text{sec}/\text{mm}$ )을 나타내는 표는 또한 발생된다. 마지막으로, 동일한 절차는 제3 시퀀스에 적용되어, 플롯 및 표를 산출하고, 여기서 플롯은 도 19에 도시된다.
- [0148] 다시, 상기 플롯으로부터, 영상 260-290의 서브시퀀스가 피크 휘도에 있는 것이 결정되고, 이동 중에서 회석 이후의 혈액을 순환하는 ICG의 농도는 계산된다. 이 시점, 주사된 한 회분의 ICG의 농도는, 눈으로 이의 이동 동안 0.161 mg/ml의 농도로, 310 배로 회석된, 25 mg/0.5 ml = 50.0 mg/ml이다. 그러므로, (영상 260-290에 상응하는) 안구 혈관에서 염료의 피크 농도는 207  $\mu\text{M}$ 이다.
- [0149] 제2 플롯은 영상 260-290에 대해 발생되고, 두 개의 연속 혈액 흐름 펄스들 사이에 벨리는 선택된다 (녹색 정사각형). 동시에, 도 20에 나타난 바와 같이, 각 펄스에 대해 계산된 혈액 흐름, 뿐만 아니라 평균 흐름 (0.105  $\mu\text{L}/\text{sec}/\text{mm}$ )을 나타내는 표는 또한 발생된다.
- [0150] 동일 눈으로부터 3개의 연속 혈관조영의 상기 분석은 0.058, 0.055, 및 0.105  $\mu\text{L}/\text{sec}/\text{mm}$ 의 맥락막 혈액 흐름을 산출하고, 이의 모두는, Aim 및 Bi11에 의해 보고되고, 다음의 마지막 섹션에서 기재된 바와 같은, 0.0866  $\mu\text{L}/\text{sec}/\text{mm}$ 의 골드 표준 흐름과 비교하여 뒤지지 않는다.
- [0151] 시노물구스 원숭이 눈으로부터의 방사선 동위원소로 표지된 미소구체 데이터 ("골드 표준")
- [0152] 도 21에서 좌-측 영상 (도 21의 A)은 사람 눈의 혈관조영으로부터의 영상이다. 우-측 영상 (도 21의 B)에 있어서, 좌-측 영상 (도 21의 A)에 나타난 망막 영역은 Aim 및 Bi11의 실험에 있어서 이들에 의해 사용된 원숭이의 왼쪽 눈으로부터 평면-고정 맥락막의 방사능 사진상에 중첩된 박스로서 표현된다. 중간 부분의 홀은 시신경의 제거에 기인하는 것이다. 검은 스팟 (spots)은 포획된 미소구체를 나타내고, 상기 스팟의 밀도는 혈류 흐름 속도의 척도이다. 적색 박스에 의해 둘러싸인 면적은, 각각 6.49 및 4.53 mg/min/mm<sup>2</sup>의 혈액 흐름을 갖는, 17 대 상으로 결과에 따른, 중심와 (foveal) 및 유두주위 (peripapillary) 영역을 포함한다. 이들 데이터는 둘러싸인 면적을 위한 0.866  $\mu\text{L}/\text{sec}/\text{mm}$ 의 평균 흐름 속도로 바뀐다.
- [0153] 따라서, 다양한 구현 예에 따르면, 물리적 관계는 물질 (예를 들어, 조직)에서 광의 흡수 및 상기 물질에서 흡착제의 농도 사이에서 활용되고, 이 관계는 혈액 흐름을 정량화하기 위한 수단으로 사용된다. 다양한 구현 예에 따르면, 전술된 모든 가변성은, 이러한 결정으로부터, 독립적으로 결정될 수 있고, 흡착제의 시간에 대한 변화는 대표 혈액 흐름 (절대 혈액 흐름)을 제공하기 위해 (또한 Beer's law, Lambert-Beer law, 또는 Beer-Lambert-Bouguer law로 알려진 Beer-Lambert law를 사용하여) 결정될 수 있다. 다양한 구현 예에 있어서, 상기 Beer-Lambert law는 혈액 흐름의 척도로서 시간을 사용하는 혈액에서 형광 염료의 농도의 지표로서 형광 염료 (여기서 형광은 흡수의 지표를 제공한다)를 사용하는데 적용된다.
- [0154] 다양한 구현 예에 있어서, 전술된 모든 가변성은 독립적으로 결정된다. 그러나, 가장 어려운 관점은 아무 때라도 혈액의 즉각적인 농도의 결정에 관련한다. ICG와 같은 형광 염료는 농도에 따라 자체의 스펙트럼이 다소 변화한다. 다양한 구현 예에 따르면, 즉각적인 농도를 결정을 위한 접근법의 예로는 형광 비 (ratio)의 사용을 포함한다. 예를 들어, 두 개의 다른 파장대 (wavebands)의 비는 사용될 수 있다. 구현 예에 따르면, 2개의 다른 파장 대역은 관심의 파장 대역 (즉, 영상을 수행하는데 사용대 대역)을 브라킷 (bracket)할 수 있고, 상기 형광은 3개의 대역으로 분열된다. 다양한 구현 예에 있어서, 낮은 신호 제한 (low signal limitation)은 형광 비의 결정을 위한 2개의 파장 대역을 취하고, 동시에 영상에 대한 전체 스펙트럼 (예를 들어, 시간 다중화 (time multiplexing))을 사용하여 다뤄질 수 있다. 다양한 다른 구현 예에 있어서, 형광을 검토했던 대신에, 평가는 형광 염료의 흡수를 검토했던 만들어질 수 있다. 이 구현 예에 있어서, 더 높은 신호는 검출될 수 있다.
- [0155] 본 발명이 상세하게 기재되고 나타난 다양한 구현 예와 함께 예시되고 기재되지만, 다양한 변형 및 구조적 변화가 본 발명의 범주를 벗어나지 않고 만들어질 수 있기 때문에, 상세하게 나타난 것으로 제한되는 것으로 의도되는 것은 아니다. 본 발명의 예시된 구현 예, 뿐만 아니라 다른 구현 예의 형태, 부품의 배열, 단계들, 상세 및 작동의 순서의 다양한 변형은 본 발명의 범주를 벗어나지 않고 만들어질 수 있고, 본 상세한 설명을 참조하여 기술분야의 당업자들에게 명백할 것이다. 그러므로 첨부된 청구항은 이러한 변형들 및 구현 예들이 본 발명의 실제 범주에 속함에 따라 이들을 보호할 것이다.

도면

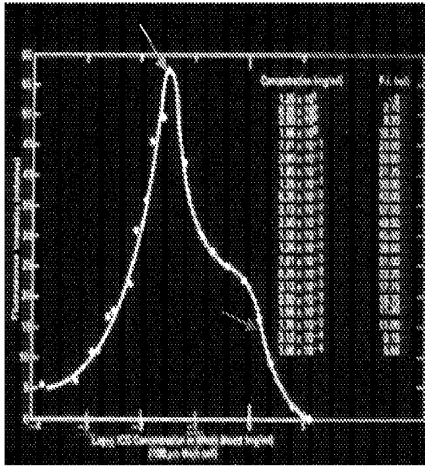
도면1



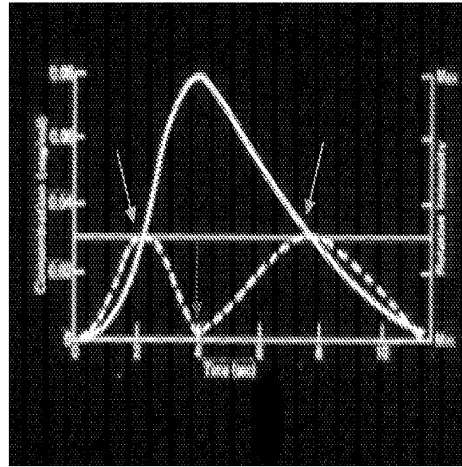
도면2



도면3

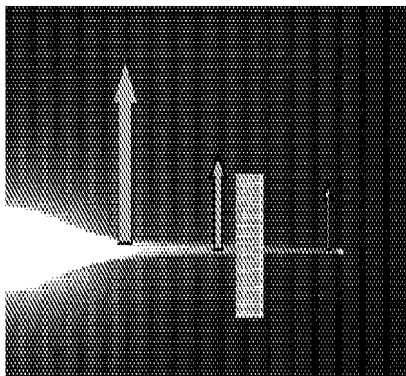


A

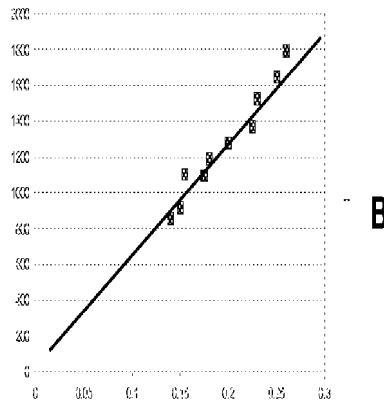


B

도면4

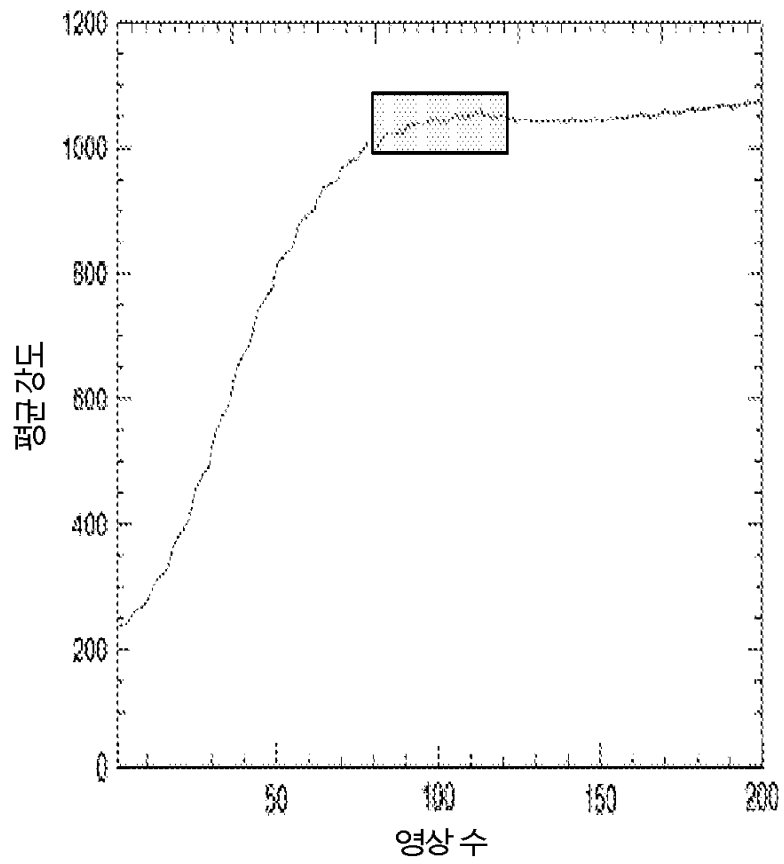


A

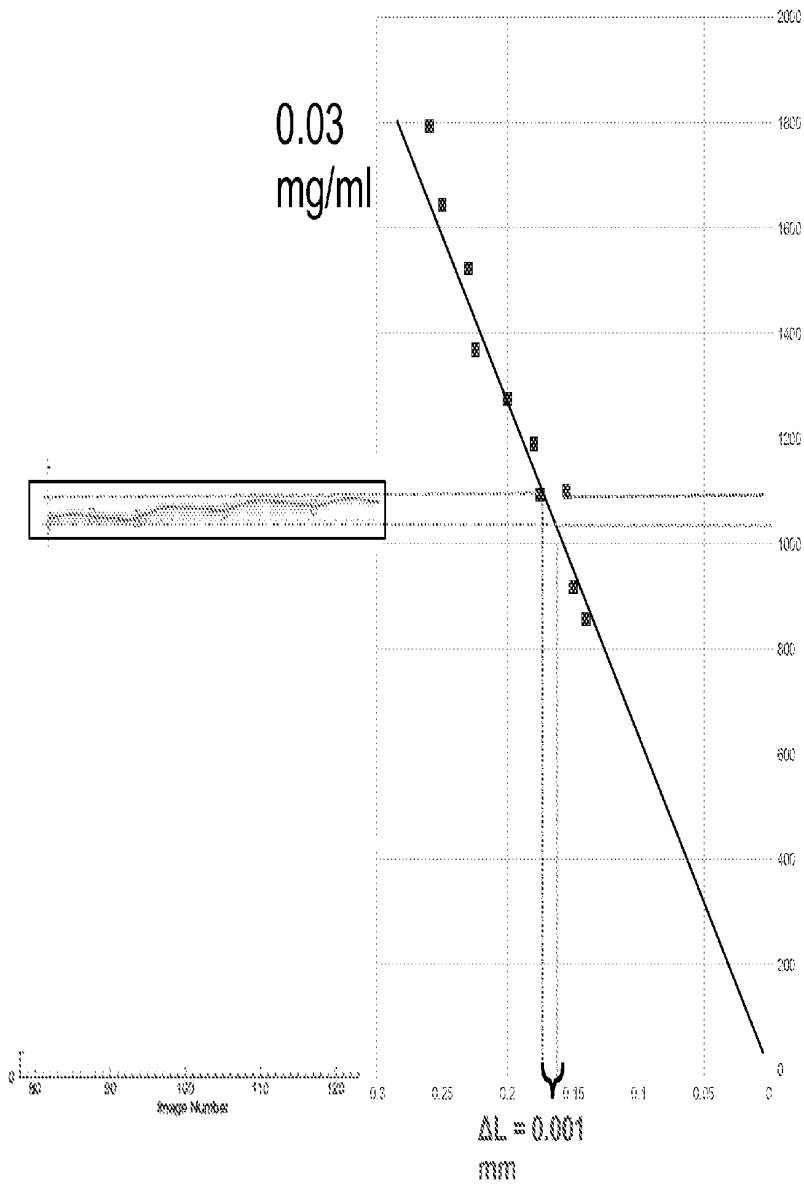


B

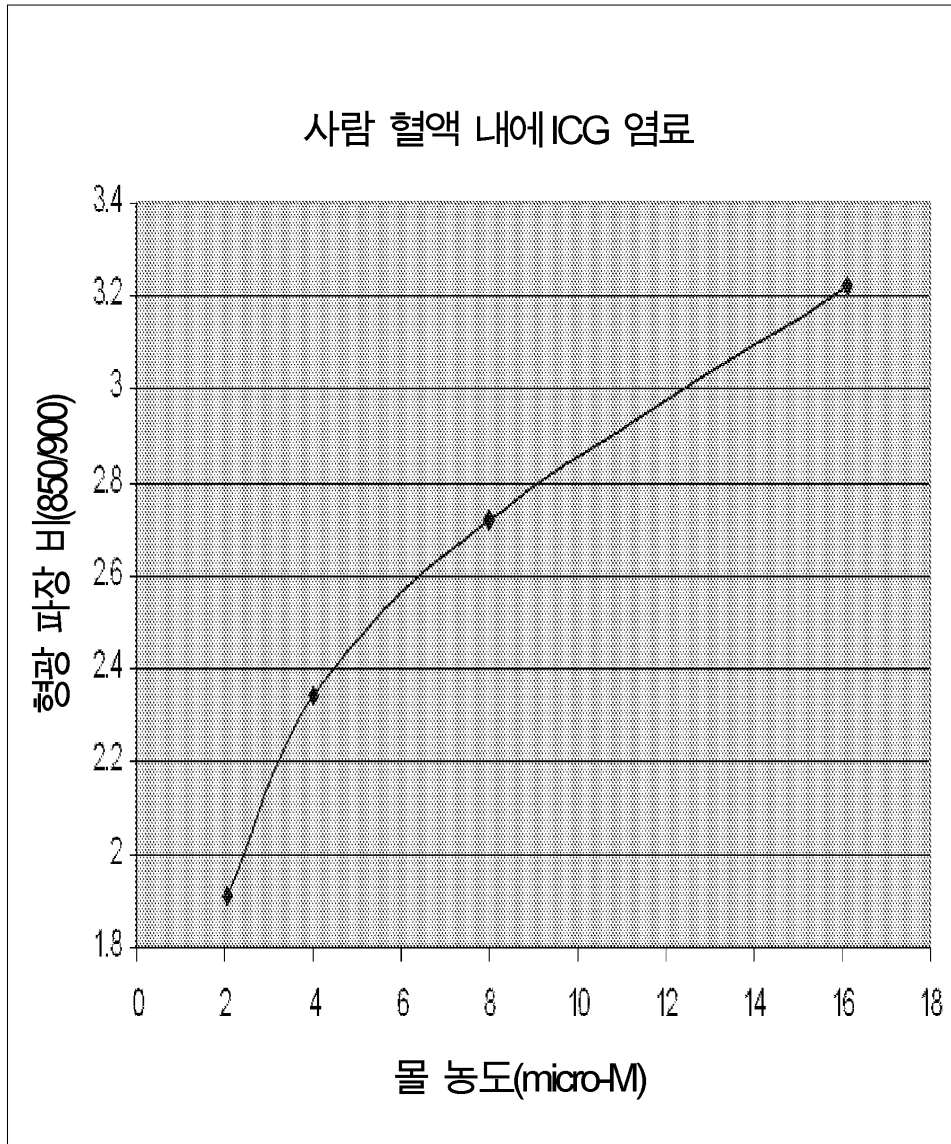
도면5



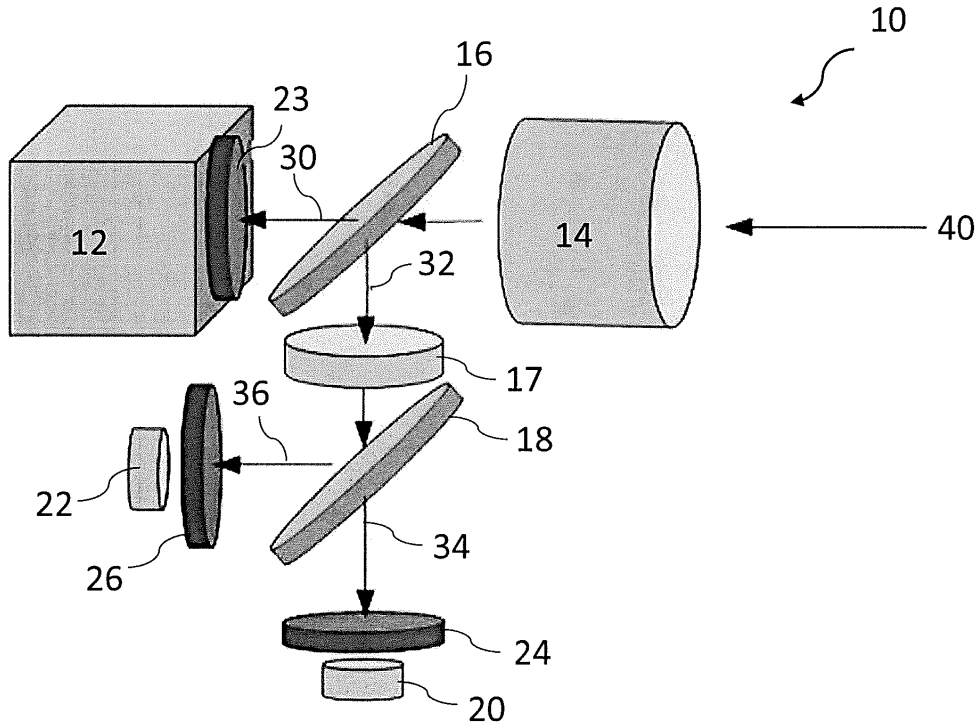
도면6



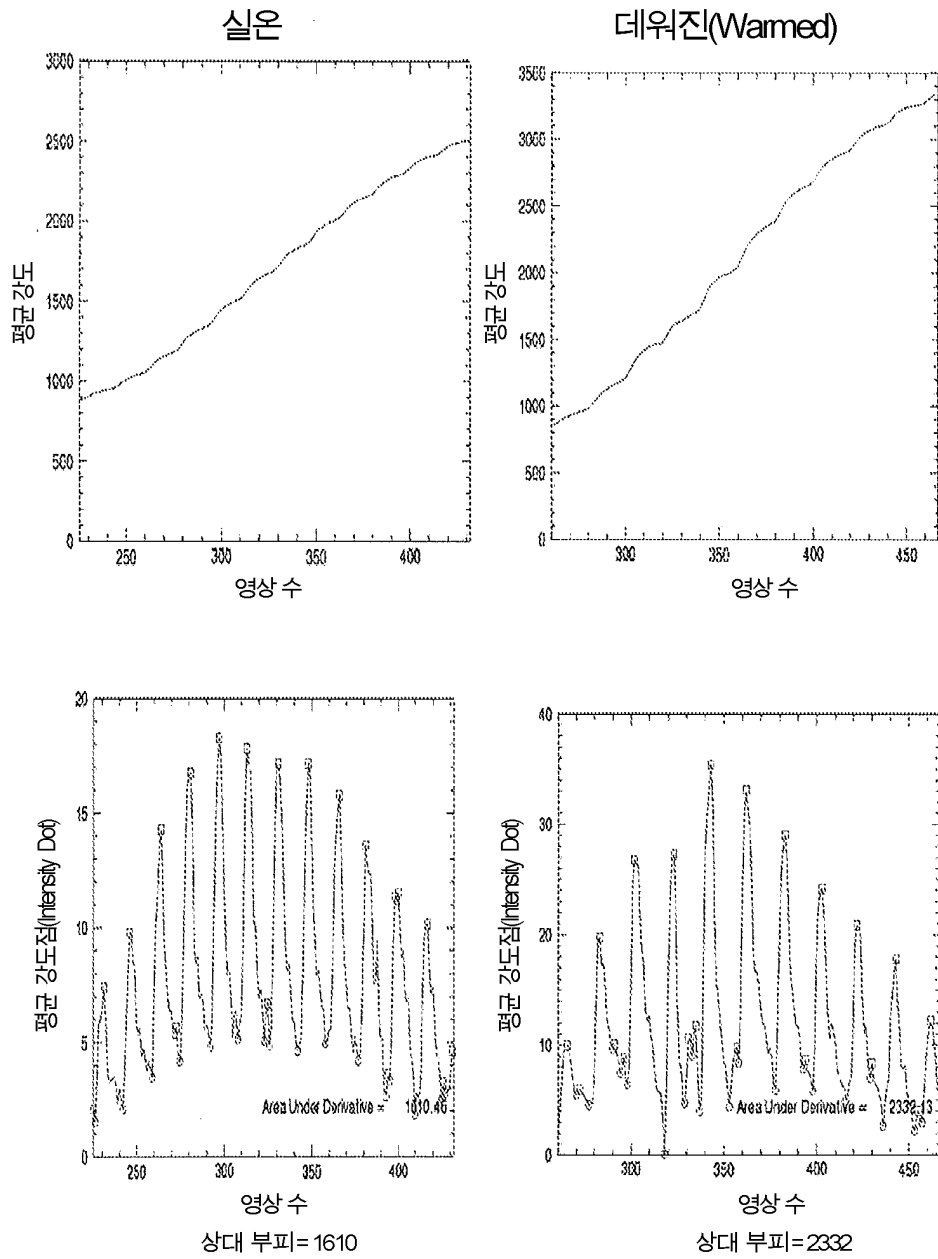
도면7



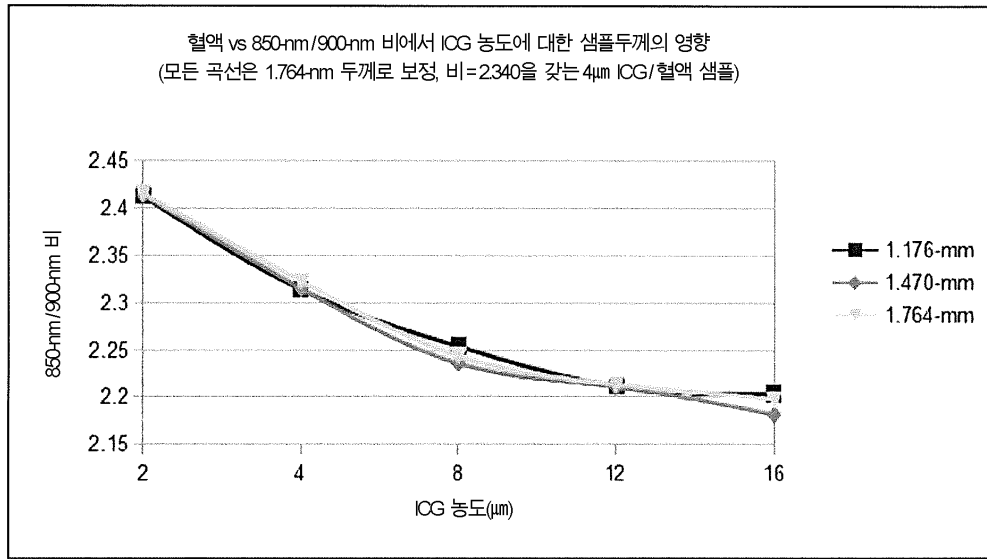
도면8



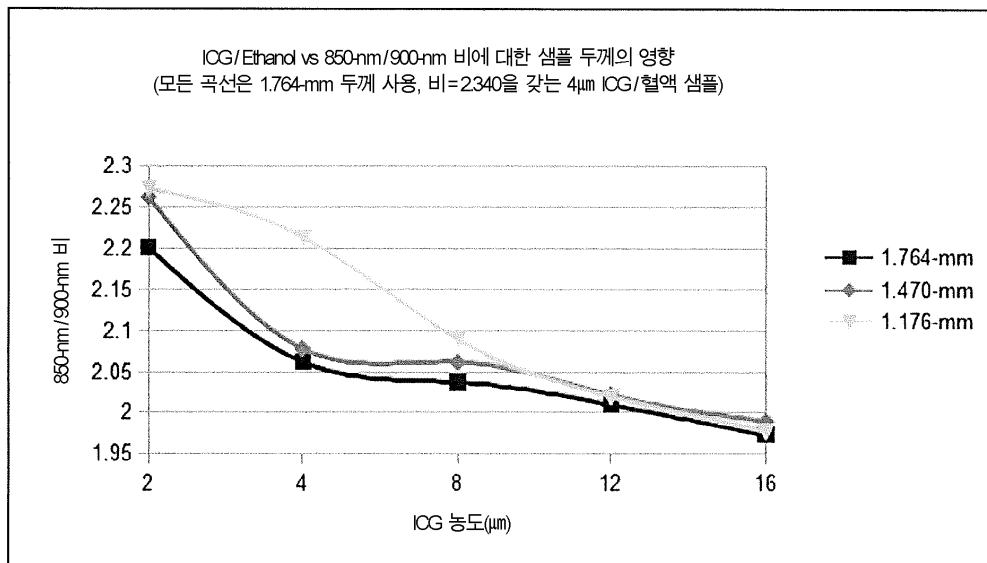
도면9



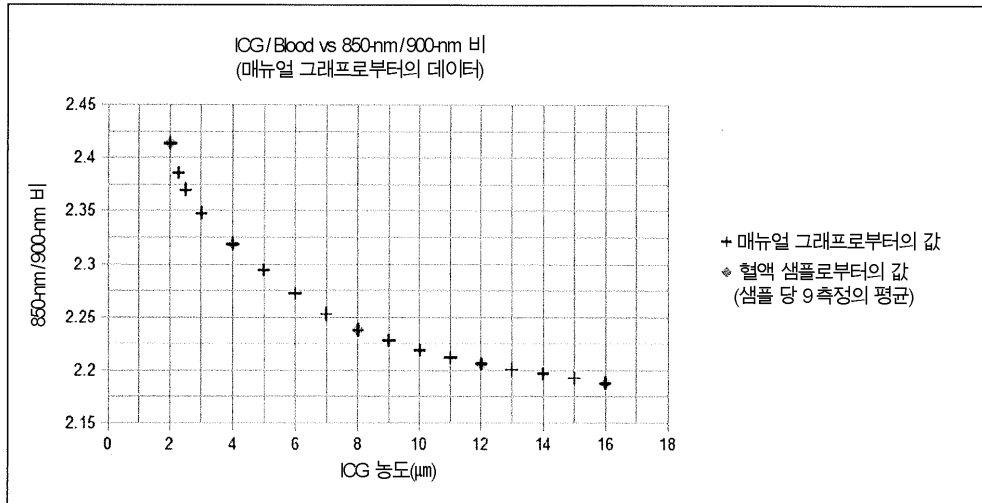
도면10



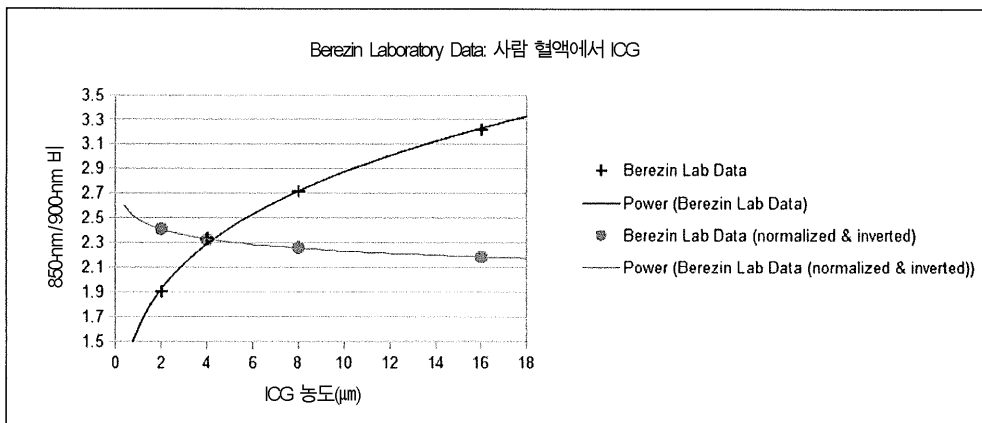
도면11



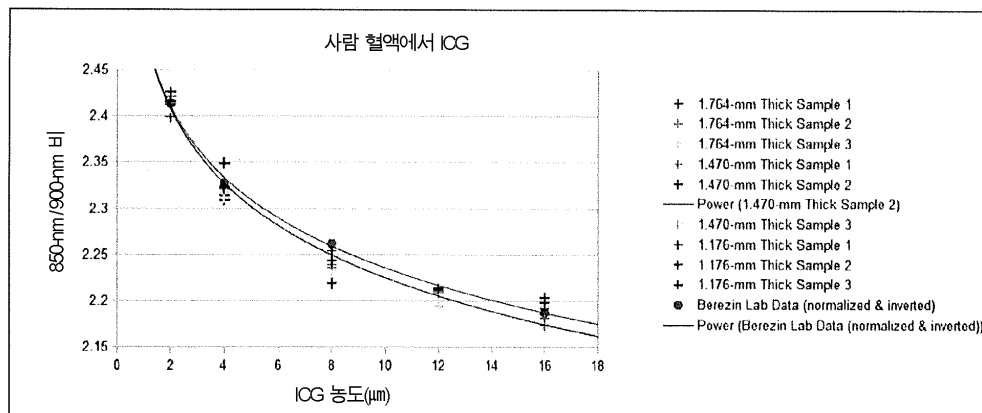
도면12



도면13

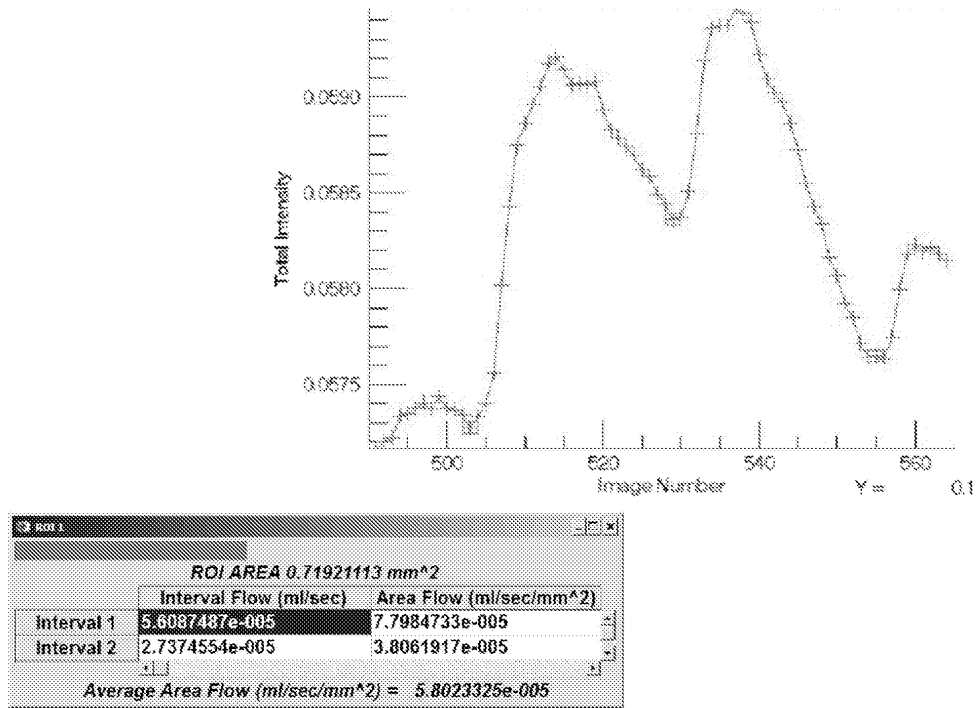


도면14

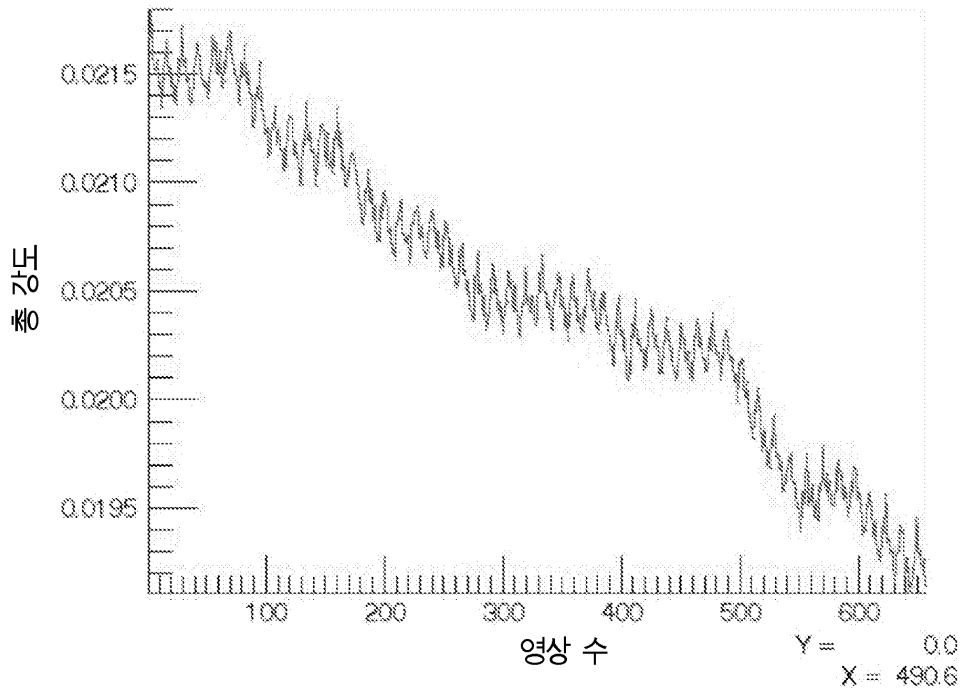




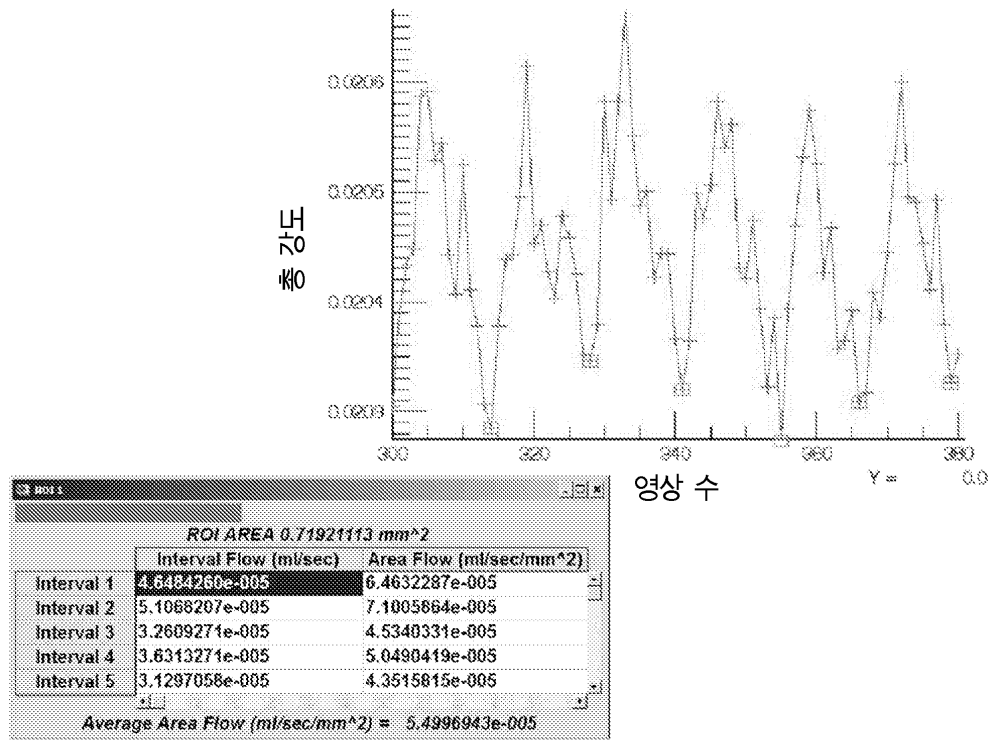
도면16



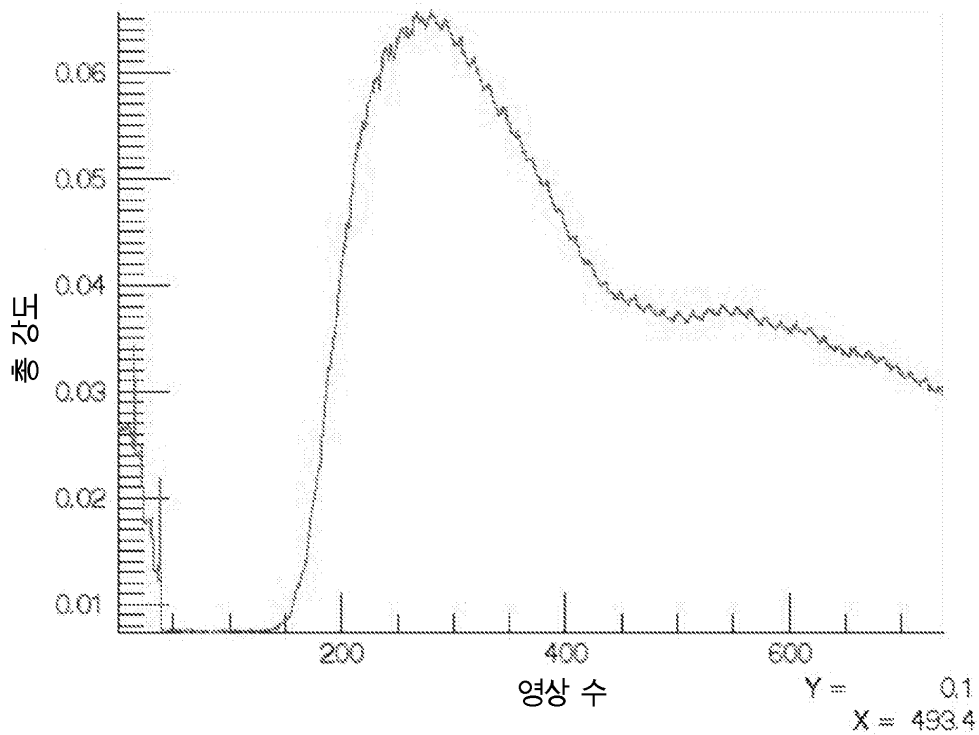
도면17



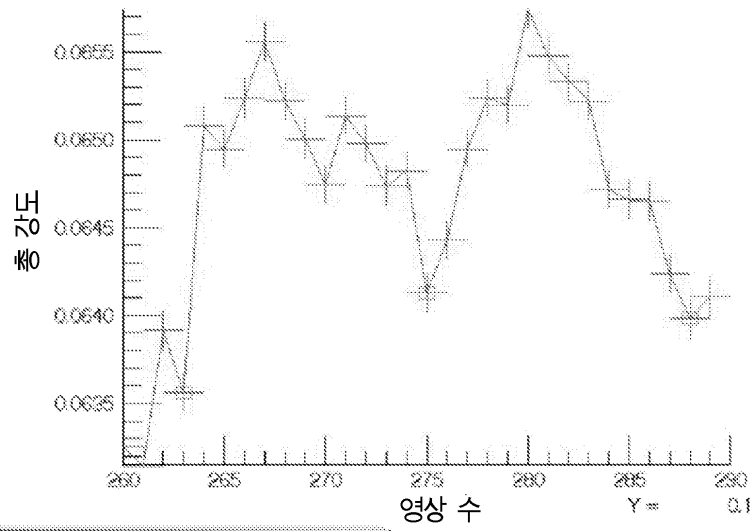
도면18



도면19

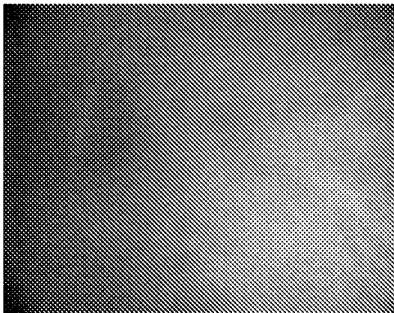


도면20

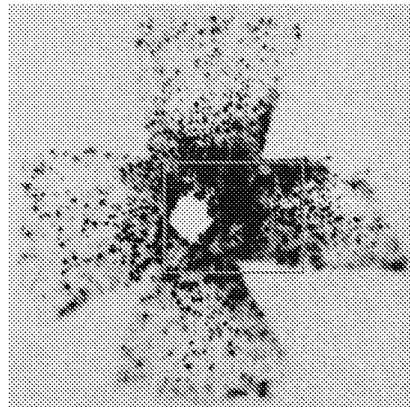


ROI AREA 0.71921113 mm <sup>2</sup>	
Interval	Interval Flow (ml/sec)    Area Flow (ml/sec/mm <sup>2</sup> )
Interval 1	6.6289013e-005    0.00011997730
Interval 2	6.4413184e-005    8.9560884e-005
Average Area Flow (ml/sec/mm <sup>2</sup> ) = 0.00010476909	

도면21



A



B

专利名称(译)	使用荧光介导的血流测量量化组织中的绝对血流量		
公开(公告)号	<a href="#">KR1020160019950A</a>	公开(公告)日	2016-02-22
申请号	KR1020167000943	申请日	2014-06-16
[标]申请(专利权)人(译)	诺瓦达克技术公司		
申请(专利权)人(译)	黑暗新星Technologies公司的		
当前申请(专利权)人(译)	黑暗新星Technologies公司的		
[标]发明人	FLOWER ROBERT W 플라워 로버트 더블유		
发明人	FLOWER, ROBERT, W. 플라워, 로버트, 더블유.		
IPC分类号	A61B5/0295 A61B5/00		
CPC分类号	A61B5/0071 A61B5/0275 A61B5/0295 A61B5/6826		
优先权	61/835408 2013-06-14 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

提供了使用近红外荧光血管造影术(荧光介导的光照分析测量)结合光折射动力学测量来量化组织中的绝对血流的方法和系统。本发明的方法和系统基于荧光强度的测量提供了在体积/时间/面积方面的流量的绝对实时测量。

