



Tekli Toplayıcı Küre Sistemi ile Tavuk Karaciğeri Dokusunun Optik Parametrelerinin Belirlenmesi Estimation of Optical Parameters of Chicken Liver Tissue via Single Integrating-Sphere System

Bahar Pehlivanöz ve Halil Arslan

Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Elektrik-Elektronik Mühendisliği
Sakarya, Türkiye

b.phlvnz@gmail.com, harslan@sakarya.edu.tr

Özetçe —Lazerler klinik olarak çeşitli hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanılmaktadır. Doğru teşhis ve iyi bir tedavi planlaması için lazer ışığının doku içerisindeki yayılımının, dokuya ne kadar nüfuz ettiğinin ve dokunun optik parametrelerinin bilinmesi önemlidir. Dokunun optik özelliklerinin belirlenebilmesi için dağınık yansıma ve dağınık geçirgenlik ölçümlerine ihtiyaç duyulur. Bu ölçümler toplayıcı küre sistemleri kullanılarak elde edilebilmektedir. Bu çalışmada, tekli toplayıcı küre sistemi ve ters ekleme-katlama yazılımı kullanılarak tavuk karaciğerinin optik özellikleri elde edilmiştir. Tavuk karaciğeri dokusunun soğurma katsayısı ve indirgenmiş saçılma katsayısı sırasıyla 0.25 mm^{-1} ve 0.65 mm^{-1} bulunmuş olup elde edilen bu değerlerin literatürdeki mevcut veriler ile uyumlu oldukları görülmüştür.

Anahtar Kelimeler—Lazer-doku etkileşimi, Soğurma katsayısı, Saçılma katsayısı, Toplayıcı küre sistemi, Ters ekleme-katlama.

Abstract—Lasers are clinically used in the diagnosis and treatment of various diseases. For correct diagnosis and treatment planning, it is important to know the light propagation in tissue, how much it penetrates, and the optical parameters of the tissue. In order to determine the optical properties of the tissue, diffuse reflectance and diffuse transmittance measurements are needed. These measurements can be performed by using integrating sphere systems. In this study, the optical properties of chicken liver tissue has been obtained with a single-integrating sphere system and the inverse adding-doubling software. Absorption coefficient and reduced scattering coefficient of the chicken liver tissue have been found to be 0.25 mm^{-1} and 0.65 mm^{-1} , respectively. These values are in good agreement with the values in the literature.

Keywords—Laser-tissue interaction, Absorption coefficient, Reduced scattering coefficient, Integrating sphere system, Inverse adding-doubling.

I. GİRİŞ

Lazerler, klinik olarak çeşitli hastalıkların teşhis ve tedavisinde yaygın biçimde kullanılmaktadır. Teşhis ve tedavi uygulamaları arasındaki temel farkı ışığın doku ile etkileşiminin türü belirlemektedir. Teşhis uygulamalarında lazerler, doku üzerinde net bir etki yapılmayacak biçimde kullanılırken, tedavi uygulamalarında ise farklı etkilerin oluşturulması amaçlanmaktadır. Örneğin; fotodinamik terapi (FDT),

ışığa duyarlı madde (fotosensitizer) ve uygun dalga boyuna sahip lazer ışığının kullanıldığı bir kanser tedavi yöntemidir. Fotosensitizer içeren ilaç, vücuda verildikten bir süre sonra, tümörlü dokuda birikmektedir. Hedef dokuya uygulanan lazer ışığının, fotosensitizer tarafından soğurulması ile açığa çıkan enerji, moleküler oksijene aktarılarak tümörün tahrip olmasına neden olan singlet oksijen molekülleri oluşmaktadır [1]. Teşhis ve tedavilerde kullanılması sebebiyle en çok tercih edilen fotosensitizerlerden biri olan 5-Aminolevulinik asit (5-Aminolevulinic Acid, 5-ALA), 635 nm dalga boylu lazer ile birlikte kullanıldığında oldukça etkili sonuçlar vermektedir [2-4]. FDT tedavi planlamasında, tedavi sonuçlarının başarılı olması için hedef dokuya uygulanacak optik dozun hesaplanması büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla lazer ışığının dokunun optik özelliklerinin hassas bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir.

Işık, doku içerisinde ilerlerken dokunun optik özelliklerine bağlı olarak çeşitli oranlarda soğurulur, saçılır veya iletilir. Soğurulma, dokudaki hemoglobin ve melanin konsantrasyonunun yanı sıra oksijen saturasyonu ile doğrudan ilişkiliyken, saçılma ise lipit konsantrasyonu, hücre çekirdeği boyutu ve hücre membranı kırılma indisi değişimi ile bağlantılıdır [5]. Işık yayılımı, dokulardaki ana optik parametreler olan soğurma katsayısı, saçılma katsayısı ve anizotropi faktörü ile karakterize edilir. Soğurma katsayısı (μ_a), ışığın doku içerisinde birim uzunluktaki soğurulma olasılığı olarak tanımlanırken saçılma katsayısı (μ_s) ise benzer şekilde birim uzunluktaki saçılma olasılığı olarak tanımlanır. Anizotropi faktörü (g) ise fotonun saçılma nedeniyle sapma açısının kosinüsünün ortalaması olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca anizotropi faktörü ve saçılma katsayısından faydalanarak bir ortamdaki saçılma özelliğini tam olarak yansıtan bir parametre olan indirgenmiş saçılma katsayısı (μ'_s) kullanılır. İndirgenmiş saçılma katsayısı;

$$\mu'_s = \mu_s(1 - g) \quad (1)$$

eşitliği ile hesaplanır.

Bu optik parametreleri elde etmek için çok çeşitli deneysel teknikler ve teorik modeller kullanılmıştır. Bilinen Maxwell denklemleri yerine, biyolojik dokular gibi bulanık ortamların çoklu saçılma nitelikleri nedeniyle biyolojik dokularda ışık

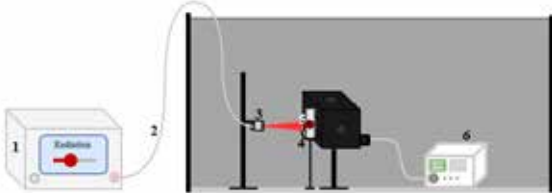
yayımlarını tanımlamak için ışınımsal taşıma denklemi (Radiative Transport Equation, RTE) kullanılır [5,6]. Bununla birlikte, RTE, enerjinin korunmasına dayanan Maxwell'in denklemlerine bir yaklaşım olarak kabul edilir, bu da uzay ve zaman boyunca dokulara foton yayılımını açıklar [6]. RTE çözümlerine dayanan toplam dağınık yansımaya (total diffuse reflectance) ve toplam dağınık geçirgenlik (total diffuse transmittance) değerlerinden doku optik parametrelerini elde etmek için birçok sayısal ve deneysel yöntem kullanılmaktadır. Ters Monte-Carlo Simülasyonu (Inverse Monte-Carlo Simulation) [7], Ters Ekleme-Katlama (Inverse Adding-Doubling, IAD) yöntemi [8], Kubelka-Munk modelini [9] bu yöntemlere örnek olarak gösterilebilir.

Deneysel olarak kullanılan en yaygın tekniklerden biri Tek ve Çift Toplayıcı Küre (Single or Double Integrating-Sphere) sistemidir [10,11]. Optik parametrelerin belirlenmesi için matematik modelinde kullanılacak olan toplam dağınık yansımaya ve geçirgenlik bu sistem ile ölçülmektedir [12]. Toplayıcı küre, yüksek oranda yansıtıcı bir kaplanmış iç yüzeye sahip içi boş bir küresel yapıdır ve bu yansıtıcı yüzey, ışığın homojen olarak kürenin içinde dağılmasına yardımcı olmaktadır [13]. Toplayıcı küre sistemi ile, in vitro olarak, 630 nm'den 1064 nm'ye kadar geniş bir dalga boyu aralığında farklı doku türlerinin optik özelliklerinin belirlendiği çalışmalar mevcuttur [14]. Diğer bir çalışmada, kurutulmuş ve doğal tavuk deri dokusunun dağınık yansımaya ve geçirgenlik değerleri tekli toplayıcı küre ile ölçüldükten sonra Kubelka-Munk Modeli ve Bouguer-Beer-Lambert Yasasının kombinasyonu ile dokuların optik özellikleri tahmin edilmiştir [11].

Bu çalışmada, tekli toplayıcı küre sistemi kullanılarak tavuk karaciğer dokusunun toplam dağınık yansımaya ve geçirgenlik değerleri ölçülmüştür. Elde edilen ölçüm sonuçlarıyla, IAD yazılımı kullanılarak dokunun 635 nm için soğurma katsayısı ve indirgenmiş saçılma katsayısı belirlenmiştir. Ayrıca belirlenen bu parametreler ile 635 nm lazer ışığı için optik penetrasyon derinliği hesaplanmıştır.

II. MATERYAL VE METOD

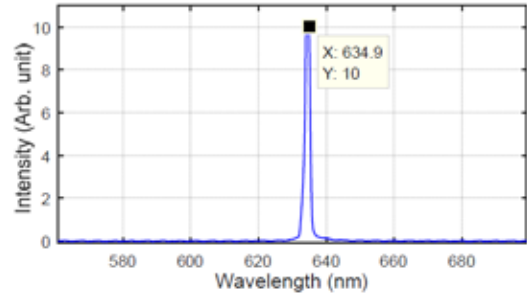
Bu çalışmada, toplam dağınık yansımaya ve geçirgenlik değerlerinin ölçüldüğü deney düzeneğinin şematik gösterimi Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1: Deney düzeneği: 1. FDT lazer cihazı 2. Fiber optik kablo 3. Kolimatör 4. Mikroskop lamı 5. Doku örneği 6. Fotodiyot amplifikatör

Deney düzeneğinde, ölçüm tekniği olarak tekli toplayıcı küre (IS236A, Thorlabs) sistemi kullanılırken ışık kaynağı

olarak FDT lazer cihazı (LAXCELL T3000, Bio-Optics Co.) kullanılmıştır. FDT lazer cihazı, sabit 635 nm dalga boyunda maksimum 1.5 W optik güce kadar çalıştırılabilmektedir. Cihazdan elde edilen lazerin dalga boyu spektrumu ölçüm sonucu Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2: FDT lazer cihazının dalga boyu spektrumu [15]

Deneyler için tavuk karaciğer dokusu kullanılmıştır. Dokuların kurumaya bağlı olarak optik özelliklerinin değiştiği bilindiğinden [16], sağlıklı sonuç elde edebilmek amacıyla kullanılan dokuların taze olmasına dikkat edilmiştir. Termal bir denge sağlanması için 20-30 dk oda sıcaklığında bekletilen karaciğer dokusundan 0.5 mm kalınlıkta bir örnek alınarak iki mikroskop lamı arasına yerleştirilmiştir.

Hazırlanan doku örneği toplayıcı küre deney düzeneğinde farklı konumlandırılarak ölçümler gerçekleştirilmiştir. Bu deneyde yapılan ölçümler ve ölçüm sonuçlarından μ_a ve μ_s' parametrelerinin elde edilmesine ilişkin detaylar bir sonraki bölümde ele alınmıştır.

III. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Dokunun optik özelliklerini IAD yazılımını kullanarak hesaplamak için toplayıcı küre sistemi ile 6 farklı ölçüm yapılması gerekmektedir. Yapılan ölçümler sırasıyla şu şekildedir:

İlk olarak toplam yansımaya (M_R) değerinin hesaplanabilmesi için 3 ölçüm gerçekleştirilmiştir. Toplayıcı kürenin çıkışına %99 yansıtıcı yüzeye sahip standart yansıtıcı konularak dağınık yansımaya (diffuse reflectance, R_S) değeri ölçülmüştür. Standart yansıtıcının %99 yansıtıcı yüzeye sahip seçilmesinin sebebi standardın, dokudan daha yüksek yansımaya oranına sahip olmasının istenmesidir [17]. İkinci olarak kürenin çıkışı boş bırakarak R_0 değeri ölçülmüştür. Bu ölçümün yapılmasındaki sebep; teoride hiçbir şekilde yansımaya yapmaması gereken ışığın, normalde küçük değerlerde yansımaya yapması ve ölçümü etkileyebileceğinin göz önünde bulundurulmasıdır. Bir sonraki ölçümde küre çıkışına doku örneği yerleştirilerek yansımaya değeri (R_D) ölçülmüştür. Bu ölçüm sonuçları kullanılarak toplam yansımaya:

$$M_R = r_{std} \cdot \frac{R_D - R_0}{R_S - R_0} \quad (2)$$

eşitliğiyle hesaplanmış ve 0.076 bulunmuştur. Bu eşitlikteki r_{std} değeri 0.99 olarak alınmıştır.

Toplam geçirgenlik (M_T) değerinin hesaplanabilmesi için 3 farklı ölçüm daha yapılmıştır. Bunlardan ilki kürenin çıkış



portu kapatılarak gerçekleştirilen ölçüm olup bu sayede ışığın küredeki dağılık geçirgenlik (diffuse transmittance, T_K) değeri belirlenmiştir. Bu ölçüm sırasında dağılmadan geri yansıyan ışığın geldiği yoldan geri döndüğü bilinmektedir [17, 18]. Bir sonraki ölçümde, kürenin çıkışı kapalıyken ışık girişinin bloke edilmesiyle ışık ve doku yok iken bir arkaplan ölçümü (T_0) yapılmıştır. Son olarak, doku örneği giriş portunun önüne yerleştirilerek geçirgenlik değeri (T_D) ölçülmüştür. Bu ölçüm sonuçları kullanılarak toplam geçirgenlik:

$$M_T = \frac{T_D - T_0}{T_K - T_0} \quad (3)$$

eşitliğiyle hesaplanmış ve 0.677 bulunmuştur.

M_R ve M_T değerlerine ek olarak doku kalınlığı, dokunun kırıcılık indisi, lam kalınlığı, kürenin geometrik özellikleri gibi parametrelerin yer aldığı veri dosyası hazırlanarak IAD yazılımında analiz edilmiştir. Sonuç olarak tavuk karaciğeri dokusunun soğurma katsayısı 0.25 mm^{-1} ve indirgenmiş saçılma katsayısı 0.65 mm^{-1} olarak elde edilmiştir. Bu değerler bir başka grup tarafından aynı doku türü kullanılarak yapılmış deneyde elde edilen $\mu_a=0.14 \text{ mm}^{-1}$ ve $\mu_s=0.81 \text{ mm}^{-1}$ değerleriyle oldukça uyumludur [19].

Ayrıca bu parametreler ile optik penetrasyon derinliği (δ) arasındaki:

$$\delta = \frac{1}{\sqrt{3 \cdot \mu_a \cdot (\mu_a + \mu'_s)}} \quad (4)$$

ilişkisi kullanılarak 635 nm lazer ışığının tavuk karaciğeriindeki penetrasyon derinliği 1.22 mm olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu değer, 0.8 mm ve 3.2 mm arasında 6 farklı kalınlıktaki doku örneklerinin geçirgenliklerinin ölçülmesi ve Beer-Lambert Yasasına göre analiz edilmesi usulüne dayanan daha önceki çalışmamızda bulduğumuz 1.37 mm penetrasyon derinliğiyle de uyumludur [20].

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü (proje no 2017-09-00-013) ve TÜBİTAK (1005 proje no 116F119) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKÇA

- [1] A. M. K. Nilsson, R. Berg, S. Andersson-Engels, "Measurements of the optical properties of tissue in conjunction with photodynamic therapy", *Applied Optics*, 34(21), 4609-4619, 1995.
- [2] R. Baumgartner, R. M. Huber, H. Schulz, H. Stepp, K. Rick, F. Gamarra, A. Leberig, "Inhalation of 5-aminolevulinic acid: a new technique for fluorescence detection of early stage lung cancer", *J Photochem Photobiol B Biol.*, 36, 169-174, 1996.
- [3] Q. G. Ren, S. M. Wu, Q. Peng, J. Y. Chen, "Comparison of 5-Aminolevulinic Acid and Its Hexylester Mediated Photodynamic Action on Human Hepatoma Cells," *Acta Biochimica Biophysica Sinica*, vol. 34, no. 5, pp. 650-654, 2002.
- [4] K. Svanberg, D. L. Liu, I. Wang, S. Andersson-Engels, U. Stenram, S. Svanberg, "Photodynamic therapy using intravenous deltaaminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX sensitisation in experimental hepatic tumours in rats", *Br J Cancer*, 74(10), 1526-1533, 1996.
- [5] V. Tuchin, "Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis", 2nd ed., SPIE PRESS: Bellingham, WA, USA, ISBN 978-0-8194-6433-0, 2007.

- [6] L.V. Wang, H. Wu, "Biomedical Optics: Principles and Imaging", WILEY-INTERSCIENCE: Hoboken, NJ, USA, ISBN 978-0-471-74304-0, 2007.
- [7] G. M. Palmer, N. Ramanujam, "Monte Carlo-based inverse model for calculating tissue optical properties. Part I: Theory and validation on synthetic phantoms", *Appl Opt.*, Feb 10;45(5):1062-71, 2006.
- [8] G. de Vries, J. F. Beek, G. W. Lucassen, and M. J. C. van Gemert, "The Effect of Light Losses in Double Integrating Spheres on Optical Properties Estimation", *IEEE Journal Of Selected Topics In Quantum Electronics*, Vol. 5, No. 4, 1999.
- [9] H. Ullah, M. Atif, S. Firdous, M. S. Mehmood, M. Y. Hamza, M. Imran, G. Hussain, M. Ikram, "Optical Properties of Normal and Thermally Coagulated Chicken Liver Tissue Measured ex- vivo with Diffuse Reflectance", *Optics and Spectroscopy*, Vol.110, No2, pp. 313-319, 2011.
- [10] A. J. Welch, M. J. Van Gemert, "Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue", Springer: New York, NY, USA, 2011.
- [11] O. Hamdy, M. Fathy, T. A. Al-Saeed, J. El-Azab, N. H. Solouma, "Estimation of optical parameters and fluence rate distribution in biological tissues via a single integrating sphere optical setup", *Optik*, 140, 1004-1009, 2017.
- [12] S. A. Prah, M. J. C. Van Gemert, A. J. Welch, "Determining the optical properties of turbid media by using the adding-doubling method", *Appl. Opt.*, 32, 559-568, 1993.
- [13] A. Kienle, L. Lilge, M. S. Patterson, R. Hibst, S. Rudolf, B. C. Wilson, "Spatially resolved absolute diffuse reflectance measurements for noninvasive determination of the optical scattering and absorption coefficients of biological tissue", *Appl. Opt.*, 35, 2304-2314, 1996.
- [14] J. F. Beeky, P. Blokland, P. Posthumus, M. Aalders, J. W. Pickering, H. J. C. M. Sterenberg, M. J. C. Gemert, "In vitro double-integrating-sphere optical properties of tissues between 630 and 1064 nm", *Phys. Med. Biol.*, 42, 2255-2261, 1997.
- [15] H. Arslan, Y. B. Dolugan, A. N. Ay, "Measurement of the Penetration Depth in Biological Tissue for Different Optical Powers", *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2147-835X, 2017.
- [16] J. Ludmir, H. M. Sehdev, "Anatomy and Physiology of the Uterine Cervix", *Clin Obstet Gynecol*, 43, 433-439, 2000.
- [17] J. W. Pickering, C. J. M. Moes, H. J. C. M. Sterenberg, S. A. Prah, M. J. C. van Gemert, "Two integrating spheres with an intervening scattering sample", *J. Opt. Soc. Am. A*, vol. 9, pp. 621-631, 1992.
- [18] J. W. Pickering, S. A. Prah, N. van Wieringen, J. B. Beek, H. J. C. M. Sterenberg, and M. J. C. van Gemert, "A double integrating sphere system for measuring the optical properties of tissue", *Appl. Opt.*, vol. 32, pp. 399-410, 1993.
- [19] O. Hamdy, J. El-Azab, T. A. Al-Saeed, M. F. Hassan, N. H. Solouma, "A Method for Medical Diagnosis Based on Optical Fluence Rate Distribution at Tissue Surface", *Materials*, 10, 1104, 2017.
- [20] B. Pehlivanov, H. Arslan, "Measurement of the Penetration Depth for 635 nm Laser Light in Chicken Liver Tissue", *International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018)*, pp. 83, 2018.